



XV Congreso
Sociedad Española
de Fitopatología



EUSKO JAURLARITZA



GOBIERNO VASCO

INGURUMEN, LURRALDE
PLANGINTZA, NEKAZARITZA
ETA ARRANTZA SAILA

DEPARTAMENTO DE MEDIO AMBIENTE,
PLANIFICACIÓN TERRITORIAL,
AGRICULTURA Y PESCA



Vitoria-Gasteiz
27 de septiembre-1 de octubre de 2010
Palacio Europa

EUSKO JAURLARITZA



GOBIERNO VASCO

INGURUMEN, LURRALDE
PLANGINTZA, NEKAZARITZA
ETA ARRANTZA SAILA

DEPARTAMENTO DE MEDIO AMBIENTE,
PLANIFICACIÓN TERRITORIAL,
AGRICULTURA Y PESCA

Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia

Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco

Vitoria-Gasteiz, 2010

Un registro bibliográfico de esta obra puede consultarse en el catálogo de la Biblioteca General del Gobierno Vasco: <http://www.euskadi.net/ejgvbiblioteca>

Edición: 1.ª, septiembre 2010

Tirada: 500 ejemplares

© Administración de la Comunidad Autónoma del País Vasco
Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial,
Agricultura y Pesca

Internet: www.euskadi.net

Editan: Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia
Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco
Donostia-San Sebastián, 1 - 01010 Vitoria-Gasteiz

Fotocomposición: Gráficas Varona, S. A.

IMPRIME: Gráficas Varona, S. A.
Polígono Industrial «El Montalvo I», parcela 49
37008 Salamanca (España)

ISBN: 978-84-457-3083-6

Depósito Legal: VI 427-2010

ÍNDICE

PRÓLOGO	7
ENTIDADES ORGANIZADORAS	9
ENTIDADES COLABORADORAS	9
ENTIDADES PATROCINADORAS.....	9
COMITÉ DE INAUGURACIÓN.....	11
COMITÉ DE CLAUSURA.....	11
COMITÉ ORGANIZADOR DEL XV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA	12
COMITÉ CIENTÍFICO	12
PROGRAMA.....	13
LISTA DE PANELES.....	23
RESÚMENES DE PONENCIAS INVITADAS.....	49
RESÚMENES DEL SIMPOSIO DE GENÓMICA.....	57
RESÚMENES DE COMUNICACIONES ORALES.....	63
Sesión plenaria I: Etiología y diagnóstico (PLE-1 a PLE-6)	65
Sesión simultánea I: Etiología y diagnóstico 1 (SIM-7 a SIM-12)	73
Sesión simultánea II: Epidemiología 1 (SIM-13 a SIM-18).....	81
Sesión simultánea III: Patogénesis y resistencia 1 (SIM-19 a SIM-24)..	89
Sesión simultánea IV: Control 1 (SIM-25 a SIM-30).....	97
Sesión plenaria II: Epidemiología (PLE-31 a PLE-36)	105
Sesión simultánea V: Patogénesis y resistencia 2 (SIM-37 a SIM-42) ..	113
Sesión simultánea VI: Etiología y diagnóstico 2 / Epidemiología 2 (SIM-43 a SIM-48).....	121
Sesión plenaria III: Patogénesis y resistencia (PLE-49 a PLE-54)	129
Sesión plenaria IV: Control (PLE-55 a PLE-60)	137
Sesión simultánea VII: Patogénesis y resistencia 3 (SIM-61 a SIM-66)	145
Sesión simultánea VIII: Control 2 (SIM-67 a SIM-72)	153
RESÚMENES DE PANELES	161
Paneles de Sesión simultánea I: Patogénesis y Resistencia (PAN-1 a PAN-70).....	163
Paneles de Sesión simultánea I: Genómica (PAN-71 a PAN-83).....	235
Paneles de Sesión simultánea II: Epidemiología (PAN-84 a PAN-128) .	251
Paneles de Sesión simultánea III: Etiología y diagnóstico (PAN-129 a PAN-179).....	299

ÍNDICE

Paneles de Sesión simultánea III: Varios (PAN-180 a PAN-183)	353
Paneles de Sesión simultánea IV: Control (PAN-184 a PAN-260)	359
ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS	439
ENTIDADES ORGANIZADORAS	451
ENTIDADES COLABORADORAS	451
ENTIDADES PATROCINADORAS.....	451

PRÓLOGO

Los miembros del Comité Organizador del XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología os damos la bienvenida a Euskadi y a la ciudad de Vitoria-Gasteiz. Esta Comunidad ha tenido y tiene como bandera la calidad de sus productos agroalimentarios, calidad ligada no sólo a la tradición sino también a la selección varietal, el manejo agrícola y la seguridad alimentaria. Es en estos tres puntos donde se han centrado buena parte de las líneas de investigación relacionadas con la Fitopatología en Euskadi, enfocadas en los cultivos tradicionales y de alta exigencia organoléptica. Este trabajo han sido realizado siempre en colaboración con Investigadores de otras Autonomías. La elección de Euskadi como sede del Congreso es para nosotros una gran satisfacción que esperamos sirva para unir esfuerzos, consolidar lazos de colaboración y compartir conocimientos; y todo ello amparado por excelentes resultados de investigación que nos permitan mantener, y si es posible mejorar, la calidad de nuestros alimentos.

La tarea de la organización, siempre amparada por la Junta Directiva de la Sociedad, ha sido compartida por técnicos e investigadores de las Diputaciones Forales de los tres Territorios Históricos (Álava, Bizkaia y Gipuzkoa) y NEIKER-Tecnalia, es por tanto reflejo del día a día en la investigación en Fitopatología de Euskadi en la que la transferencia y experimentación van acordes con los resultados de investigación.

Hemos estructurado el congreso en 14 Sesiones algunas de ellas inevitablemente simultáneas, dedicadas a Etiología y Diagnóstico, Epidemiología, Patogénesis y Resistencia y Control en las que se presentarán 72 comunicaciones orales, más la exposición permanente de más de 250 paneles que serán discutidos en 4 sesiones dedicadas exclusivamente a ello.

Este año se ha puesto especial atención al control de las enfermedades en el contexto europeo, esto es el control ligado a una drástica reducción de materias activas y las pautas marcadas por la aprobada Directiva de uso sostenible de plaguicidas. Expertos participarán en una mesa redonda dedicada expresamente a ello. En segundo lugar y como novedad a años anteriores se va a celebrar un Simposio de Genómica ligada a los estudios en Fitopatología.

Queremos destacar y agradecer el esfuerzo realizado por las instituciones, entidades y empresas a las que hemos acudido para solicitar soporte económico para la celebración de este evento. En primer lugar al Gobierno Vasco a través del departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca y las Diputaciones Forales. Así mismo a otros organismos cofinanciadores: Ministerio de Ciencia e Innovación, INIA, Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco y empresas privadas relacionadas con el sector. Por último mencionar la respuesta del sector agroalimentario que ha sido excelente, incluso en un año como este, que pasará a la historia por la crisis económica.

Finalmente nos gustaría mencionar a todos aquellos investigadores que constituyeron la semilla de la investigación en Fitopatología de Euskadi, aquellos que tienen la culpa de que algunos estemos aquí.

EL COMITÉ ORGANIZADOR

ENTIDADES ORGANIZADORAS

Sociedad Española de Fitopatología.
NEIKER (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario)
Diputación Foral de Álava
Diputación Foral de Bizkaia
Diputación Foral de Gipuzkoa

ENTIDADES COLABORADORAS

Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca
del Gobierno Vasco
Ayuntamiento de Vitoria-Gasteiz

ENTIDADES PATROCINADORAS

Artepan
Bodegas Solagüen
Bodegas Sta. María Lopez/Club Cepa Alta
Burdíñola
Cafés La Brasileña
Departamento de Educación, Universidades e Investigación
del Gobierno Vasco
Roche Diagnostics
DICSA
Idiazabal
INIA
Izasa
Fundación Kalitatea
Ministerio de Ciencia e Innovación
Phytoma España

COMITÉ DE INAUGURACIÓN

Sr. D. Xabier Agirre López
Diputado General de Álava

Sr. D. Patxi López
Lehendakari del Gobierno Vasco

Sr. D. Patxi Lazcoz Baigorri
Alcalde de Vitoria-Gasteiz

Sr. D. Jon Azkue
Presidente de Neiker-Tecnalia

COMITÉ DE CLAUSURA

Sra. Dña. María del Pilar Unzalu Pérez de Eulate
Consejera de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca

Sr. D. Jakes Aguirrezabal
Director General de Neiker-Tecnalia

COMITÉ ORGANIZADOR DEL XV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA

Presidenta: Amaia Ortiz (NEIKER-Tecnalia)
Vicepresidente: Javier Legorburu (NEIKER-Tecnalia)

Secretaria: Iranzu Telletxea (NEIKER-Tecnalia)

Vocales:

Amaia Urkola: Gipuzkoako Foru Aldundia

Dioni Berra: Gipuzkoako Foru Aldundia

Joxean Garmendia: Gipuzkoako Foru Aldundia

Jose Ramón González: Arabako Foru Aldundia

Ramón Amenábar: Bizkaiko Foru Aldundia

Ana Díez: NEIKER-Tecnalia

Eugenia Iturritxa: NEIKER-Tecnalia

Imanol Barrena: NEIKER-Tecnalia

Raquel Marquínez: NEIKER-Tecnalia

Santiago Larregla: NEIKER-Tecnalia

COMITÉ CIENTÍFICO

María Milagros López González (IVIA)

Núria Duran Vila (INIA)

M.^a Inmaculada Larena Nistal (INIA)

Alejandro Pérez García (Universidad de Málaga)

Cristina Cabaleiro Sobrino (Universidad de Santiago de Compostela)

Amparo Laviña Gomila (IRTA)

Fco. Javier Legorburu Faus (NEIKER-Tecnalia)

Jesús Murillo Martínez (Universidad Pública de Navarra)

Juana Isabel Páez Sánchez (Junta de Andalucía)

PROGRAMA

PROGRAMA

LUNES, 27 DE SEPTIEMBRE

14:30-16:00 **RECOGIDA DE DOCUMENTACIÓN Y COLOCACIÓN DE PANELES**

16:00-16:30 **INAUGURACIÓN**

16:30-17:30 **PONENCIA INVITADA I: Dr. Thierry Candresse, INRA-Burdeos.**
PI-1 PLANT VIRUSES DIVERSITY AND VARIABILITY AND THEIR
CONSEQUENCES ON OUR ABILITY TO IDENTIFY, DETECT
AND CONTROL THESE PHYTOPATHOGENIC AGENTS.
MODERADOR: JUAN-ANTONIO GARCÍA.

17:30-19:00 **SESIÓN PLENARIA I: ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO**
MODERADORES: JOSÉ-RAMÓN ÚRBEZ Y ANTONIO OLMOS.

17:30-17:45 **PLE-1 DETECCIÓN DE *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EN *Prunus* spp.**
ASINTOMÁTICOS MEDIANTE UN PROTOCOLO DE PCR A TIEMPO REAL.
Palacio-Bielsa, A., Cubero, J., Collados, R., Berruete, I., Español, M. L., Sáenz M.,
Peñalver, J., López, M. M., Cambra, M. A.

17:45-18:00 **PLE-2 ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA NECROSIS APICAL DEL**
NOGAL.
Moragrega, C.¹, Montesinos, E. ¹, Matias, J.², Aletà, N.³, Rovira, M. ²

18:00-18:15 **PLE-3 EL GEN *CYP51C*, UN NOVEDOSO MARCADOR FILOGENÉTICO PARA**
DISTINGUIR DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Fusarium*.
Fernández-Ortuño, D., Loza-Reyes, E., Rogers, S. L. y Fraaije, B. A.

18:15-18:30 **PLE-4 ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *Sclerotium rolfsii***
EN REGIONES DE CLIMA MEDITERRÁNEO.
Remesal, E., Landa, B.B., Jiménez-Gasco, M.M., y Navas-Cortés, J.A.

18:30-18:45 **PLE-5 LA NECROSIS FOLIAR DEL CAQUI: UNA NUEVA ENFERMEDAD**
CAUSADA POR *Mycosphaerella nawae*.
Berbegal, M., Pérez-Sierra, A., Armengol, J., García-Jiménez, J.

18:45-19:00 **PLE-6 VARIABILIDAD GENÉTICA DE AISLADOS DEL VIRUS DE LA SHARKA**
***Plum pox virus* EN ESPAÑA TRAS 25 AÑOS DE SU DETECCIÓN.**
Corrales A.R., Pérez, J.J., López-Fabuel, I., Gorris, M.T., García, J.A., Cambra, M.,
Olmos, A.

19:00-20:30 **RECEPCIÓN DE BIENVENIDA**

MARTES, 28 DE SEPTIEMBRE

- 09:00-10:00 **PONENCIA INVITADA II: Pr. Chris Gilligan, Universidad de Cambridge.**
PI-2 MODELS FOR INVASION AND PERSISTENCE OF PLANT PATHOGENS: MANAGING DISEASE IN THE LANDSCAPE.
MODERADOR: JUAN-ANTONIO NAVAS CORTÉS.
- 10:00-11:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA I: ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO 1.**
MODERADORES: ALFONSO NAVAS Y CARMINA MONTÓN.
- 10:00-10:15 **SIM-7 CARACTERIZACIÓN PATOGENICA Y MOLECULAR DE AISLADOS DE *Stemphylium vesicarium* PROCEDENTES DE PLANTACIONES DE PERAL.**
Ruz, L., Puig, M., Moragrega, C., Montesinos, E., Llorente, I.
- 10:15-10:30 **SIM-8 IMPORTANCIA DE LAS INFECCIONES DE *Tomato chlorosis virus* EN PIMIENTO: INCIDENCIA EN EL SUDESTE PENINSULAR Y DAÑOS OCASIONADOS.**
Fortes, I. M., Moriones, E., Navas-Castillo, J.
- 10:30-10:45 **SIM-9 DECAIMIENTO Y MUERTE DE ALMENDROS CAUSADA POR *Phytophthora TAXON niederhauserii*.**
Pérez-Sierra, A., León, M., Álvarez, I.A., Alaniz, S., Berbegal, M., García-Jiménez, J., Abad-Campos, P.
- 10:45-11:00 **SIM-10 AJO Y CEBOLLA HUÉSPEDES ALTERNATIVOS DE *Fusarium* spp. PATÓGENOS DE ESPÁRAGO.**
Molínero-Ruiz, M.L., Rubio-Pérez, E., González-Domínguez, E., Basallote-Ureba, M.J.
- 11:00-11:15 **SIM-11 ETIOLOGÍA Y RESISTENCIA VARIETAL DEL CHANCRO Y DESECACIÓN DE RAMAS DEL OLIVO.**
Pérez, M., Layosa, J. A., Rhouma, A., Vergara, A., Moral, J., Trapero, A.
- 11:15-11:30 **SIM-12 IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Fusarium* TRANSMITIDAS POR INSECTOS VECTORES EN CONÍFERAS DE GALICIA.**
Aguín, O., Escofet, P., Pérez, R., Mansilla, P.
- 10:00-11:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA II: EPIDEMIOLOGÍA 1.**
MODERADORES: ANTONIO DE VICENTE Y ROSANA VÁZQUEZ.
- 10:00-10:15 **SIM-13 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA TRANSMISIÓN DE *Candidatus Liberibacter* spp. CAUSANTE DE HUANGLONGBING EN CÍTRICOS.**
Bertolini, E., Lopes, S., López, M.M., Cambra, M.
- 10:15-10:30 **SIM-14 MODELOS DE FAVORABILIDAD CLIMÁTICA PARA LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL GARBANZO Y SUS AGENTES DE BIOCONTROL EN ESCENARIOS DE CLIMA ACTUAL Y FUTUROS ASOCIADOS AL CAMBIO CLIMÁTICO.**
Landa, B.B. y Navas-Cortés, J.A.
- 10:30-10:45 **SIM-15 FUENTES DE INÓCULO Y DINÁMICA DE LA INFECCIÓN EN LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO CAUSADA POR *Colletotrichum* spp.**
Moral, J. y Trapero, A.

PROGRAMA

- 10:45-11:00 **SIM-16 LA VERTICILOSIS DEL OLIVO EN ANDALUCÍA: PASADO, PRESENTE Y PERSPECTIVAS PARA SU CONTROL.**
Jiménez Díaz, R. M.
- 11:00-11:15 **SIM-17 EPIDEMIOLOGÍA Y ESTRATEGIAS DE CONTROL DEL VIRUS IYSV (*Iris yellow spot virus*) EN LA PRINCIPAL ZONA PRODUCTORA DE CEBOLLA DE ESPAÑA.**
Muñoz, R. M., Lerma, M. L., Castillo, P. Lunello, P.
- 11.15-11:30 **SIM-18 INFECCIÓN RADICULAR Y COLONIZACIÓN DE PLANTAS DE PERAL INOCULADAS POR RIEGO CON *Erwinia amylovora*.**
Santander, R.D., Marco-Noales, E., Ordax, M., Biosca, E.G.
- 11:30-12:00 **CAFÉ**
- 12:00-13:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA III: PATOGÉNESIS Y RESISTENCIA 1. MODERADORES: FRANCISCO CAZORLA Y RAMÓN PENYALVER.**
- 12:00-12:15 **SIM-19 ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA ISLA GENÓMICA DE BIOSÍNTESIS DE FASEOLOTOXINA EN *Pseudomonas syringae*.**
Bardaji, L. y Murillo, J.
- 12:15-12:30 **SIM-20 DOS OPERONES IMPLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE MANGOTOXINA POR *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.**
Arrebola, E., Carrión, V., Cazorla, F.M., Pérez-García, A., Murillo, J., de Vicente, A.
- 12:30-12:45 **SIM-21 ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE LA RESPUESTA A PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EN *Dickeya dadantii* 3937 (ex-*Erwinia chrysanthemi*).**
del Río, I., Cuartas, R., López-Solanilla, E., Rodríguez-Palenzuela, P.
- 12:45-13:00 **SIM-22 QUIMIOTAXIS EN *Xanthomonas* CAUSANTES DE ENFERMEDADES EN CÍTRICOS.**
Sena, M., Ferragud, E., Redondo, C., Cubero, J.
- 13:00-13:15 **SIM-23 IDENTIFICACIÓN BIOINFORMÁTICA DE FACTORES DE VIRULENCIA EN EL GENOMA DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB3 335.**
Matas I.M., Ramos, C., Murillo J., López-Solanilla, E., Rodríguez-Palenzuela, P.
- 13:15-13:30 **SIM-24 PLÁSMIDOS EN ESPECIES DE *Erwinia* PATÓGENAS DE FRUTALES: ¿POSEEN UN ORIGEN Y FUNCIONES COMUNES?**
Barbé, S., Navarro, I., López, M.M., Llop, P.
- 12:00-13:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA IV: CONTROL 1. MODERADORES: JULIO J. DÍEZ CASERO Y JUAN BARRIUSO.**
- 12:00-12:15 **SIM-25 ENSAYO DE DOS MACROALGAS MARINAS GALLEGAS EN LA PROTECCIÓN DE PIMIENTO Y JUDÍA FRENTE AL HONGO *Botrytis cinerea*.**
Pardo, C., Bárbara, I., Díaz, J.
- 12:15-12:30 **SIM-26 IMPORTANCIA DE LOS PELOS RADICALES EN EL PROCESO DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES DE OLIVO POR CEPAS DE *Pseudomonas* spp. EFECTIVAS EN EL BIOCONTROL DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO.**
Schiliro', E., Prieto, P., Valderrama, R., Maldonado-González, M., Barroso-Albarracín, J.B., Mercado-Blanco, J.
- 12:30-12:45 **Ple-56 UTILIZACIÓN DEL CURADO PARA EL CONTROL DE *Monilinia* spp. EN MELOCOTONES Y NECTARINAS.**
Usall, J. Casals, C., Teixidó, N. Lamarca, N., Viñas, I.
- 12:45-13:00 **SIM-28 EFICACIA DE COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL EN EL CONTROL DE LA ANTRACNOSIS DE HOJA EN FRESA (*Fragaria x ananassa*).**
Ortega, J., de los Santos, B., Corpas, J.L., Soliveri, J., Romero, F.

PROGRAMA

13:00-13:15 **SIM-29 EVALUACIÓN DEL PRODUCTO BIOESTIMULADOR Tronver Eco® EN EL CONTROL DE HONGOS DE SUELO (OOMICETOS Y DEUTEROMICETOS).**
Barriuso Vargas, J., Tercero Ruiz, Z., Sánchez Durán, S.

13:15-13:30 **SIM-30 AISLAMIENTO DE HONGOS PATÓGENOS DE LA VARIEDAD Rojo Brillante DE CAQUI (*Diospyros kaki*) Y SU RESPUESTA FRENTE A LA PRESENCIA DE Tronver Eco®**
Tercero Ruiz, Z., Barriuso Vargas, J., Sánchez Durán, S.

13:30-15:30 **COMIDA**

15:30-17:30 **MESA REDONDA:** El control de enfermedades en el contexto europeo. Reducción de materias activas.

PARTICIPANTES:

José-Ramón Martínez, MARM.
Carlos Palomar, AEPLA.
Richard Borreani, Bayer Crop Science
Carmen García, IFAPA.
Paloma Melgarejo, INIA.

MODERADOR: EMILIO MONTESINOS.

17:30-18:30 **CAFÉ + VISITA A PANELES I: PATOGÉNESIS Y RESISTENCIA; GENÓMICA; EPIDEMIOLOGÍA.**

18:30-20:00 **SIMPOSIO DE GENÓMICA.**

PARTICIPANTES:

Saskia Hogenhout, John Innes Centre.

SG-3 THE PHYTOPLASMA EFFECTOR PROTEIN SAP11 IMPROVES INSECT VECTOR FITNESS.

Pablo Rodríguez Palenzuela, CBGP.

SG-4 HERRAMIENTAS GENÓMICAS EN EL ESTUDIO DE LA INTERACCION PLANTA-BACTERIA.

Miguel Álvarez, Roche Diagnostics.

SG-5 PIROSECUENCIACIÓN MASIVA Y APLICACIONES EN FITOPATOLOGÍA.

MODERADORES: JESÚS MURILLO Y PABLO RODRÍGUEZ PALENZUELA.

18:30-20:00 **VISITA A LA CIUDAD** (alternativa al Simposio, 1.º grupo).

MIÉRCOLES, 29 DE SEPTIEMBRE

- 08:30 **SALIDA DE EXCURSIONES TÉCNICAS** (simultáneas):
Vid de vinificación en Rioja Alavesa.
Forestal y vid de txakoli en Bizkaia.
Forestal y manzana de sidra en Gipuzkoa.
- 10:00 **PRIMERA VISITA**
- 11:30 **SEGUNDA VISITA**
- 13:00 **COMIDA**
- 14:30 **SALIDA DE VUELTA A VITORIA**
- 16:00-17:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA DE DISCUSIÓN DE PANELES I: PATOGÉNESIS Y RESISTENCIA (PAN-1 A PAN-70); GENÓMICA (PAN-71 A PAN-83).**
MODERADORES: EMILIA LÓPEZ SOLANILLA Y VICENTE PALLÁS.
- 16:00-17:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA DE DISCUSIÓN DE PANELES II: EPIDEMIOLOGÍA. (PAN-84 A PAN-128).**
MODERADORES: SOLEDAD SACRISTÁN Y ALEJANDRO PÉREZ GARCÍA.
- 17:30-18:30 **CAFÉ + VISITA A PANELES II: ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO; VARIOS; CONTROL.**
- 18:30-20:00 **SESIÓN SIMULTÁNEA DE DISCUSIÓN DE PANELES III: ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO (PAN-129 A PAN-179); VARIOS (PAN-180 A PAN-183).**
MODERADORES: JESÚS MERCADO Y JAIME CUBERO.
- 18:30-20:00 **SESIÓN SIMULTÁNEA DE DISCUSIÓN DE PANELES IV: CONTROL (PAN-184 A PAN-258).**
MODERADORES: ROSA RAPOSO Y CAYO RAMOS.
- 18:30-20:00 **VISITA A LA CIUDAD** (alternativa a las sesiones III y IV de discusión de paneles, 2.º grupo).

JUEVES, 30 DE SEPTIEMBRE

- 09:00-10:00 **PONENCIA INVITADA III: Dr. Bart Fraaije, Rothamsted Research.**
PI-6 THE USE OF CROP ARCHIVE SAMPLES TO STUDY ADAPTATION OF PLANT PATHOGENS TO AGRONOMIC PRACTICES AND CLIMATE CHANGE.
MODERADOR: ALEJANDRO PÉREZ GARCÍA.
- 10:00-11:30 **SESIÓN PLENARIA II: EPIDEMIOLOGÍA.**
MODERADORES: BLANCA B. LANDA Y JOSÉ GARCÍA JIMÉNEZ.
- 10:00-10:15 **PLE-31 TELEDETECCIÓN DE LA VERTICILIOSIS DEL OLIVO MEDIANTE IMAGEN TÉRMICA DE ALTA RESOLUCIÓN CON VEHÍCULOS AÉREOS NO TRIPULADOS.**
Lucena, C., Berni, J.A.J., Montes-Borrego, M., Trapero-Casas, J.L., Landa, B.B., Zarco-Tejada, P., y Navas-Cortés, J.A.
- 10:15-10:30 **PLE-32 ANÁLISIS DE LA DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LONGIDÓRIDOS Y DE *Grapevine fanleaf virus* EN UN VIÑEDO DE ANDALUCÍA.**
Gutiérrez-Gutiérrez, C., Castillo, P., Navas-Castillo, J., Teixeira Santos, M., Landa, B.B. y Navas-Cortés, J.A.
- 10:30-10:45 **PLE-33 ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE EN ESPAÑA.**
Moreno, M. G., Pagán, I., Fraile, A. y García-Arenal, F.
- 10:45-11:00 **PLE-34 TRANSMISIÓN DE *Erwinia amylovora* MEDIANTE *Ceratitidis capitata*, LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA.**
Ordax, M., Piquer-Salcedo, J.E., Sabater-Muñoz, B., Biosca, E.G., López, M.M., Marco-Noales, E.
- 11:00-11:15 **PLE-35 ADAPTABILIDAD CLIMÁTICA Y ANÁLISIS DE RIESGOS DE NUEVAS ENFERMEDADES. ESTUDIO PARTICULAR DE LA MANCHA FOLIAR DEL KAKI CAUSADA POR *Mycosphaerella nawae*.**
Vicent, A., Makowski, D.
- 11:15-11:30 **PLE-36 MODELIZACIÓN DE LA PODREDUMBRE PARDAS DEL MELOCOTONERO CAUSADO POR *Monilinia* spp.**
Segarra, J., Villarino, M., Usall, J., Melgarejo, P., Lamarca, N., de Cal, A.
- 11:30-12:00 **CAFÉ**
- 12:00-13:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA V: PATOGENESIS Y RESISTENCIA 2.**
MODERADORES: F. XAVIER SORRIBAS Y ANTONIO VICENT.
- 12:00-12:15 **SIM-37 APLICACIÓN DE LA MICROSCOPIA LÁSER CONFOCAL Y LA PCR CUANTITATIVA AL CONOCIMIENTO DE LAS INTERACCIONES COMPATIBLES/ INCOMPATIBLES EN EL PATOSISTEMA *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*/ GARBANZO.**
Jiménez-Fernández, D., Montes-Borrego M, Jiménez-Díaz, R.M., Landa, B.B. y Navas-Cortés, J.A.
- 12:15-12:30 **SIM-38 EFECTO DE LA DEFOLIACIÓN PROVOCADA POR *Mycosphaerella* spp. EN EL CRECIMIENTO Y EN LA SUPERVIVENCIA DE *Eucalyptus globulus* EN URUGUAY.**
Balmelli, G., Simeto, S., Altier, N., Marroni, V., Diez, J.J.
- 12:30-12:45 **SIM-39 SUSCEPTIBILIDAD-TOLERANCIA EN EL PATOSISTEMA *Fusarium oxysporum* f. sp. *canariensis*-PALMERA CANARIA.**
Santos, E., Hernández, J. M.

PROGRAMA

- 12:45-13:00 **SIM-40 IMPLICACIONES DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA DE MANZANAS INFECTADAS POR *Penicillium expansum*.**
Torres, R., Valentines, C., Teixidó, N., Usall, J., Larrigaudière, C., Viñas, I.
- 13:00-13:15 **SIM-41 DURABILIDAD DE LA RESISTENCIA A *Tylenchulus semipenetrans* DEL PATRÓN FORNER & ALCAIDE N.º 5 EN SITUACIÓN DE REPLANTE.**
Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F. J., Pastor, J., Ornat, C., Cortada, L.
- 13.15-13:30 **SIM-42 LA TERMOSENSIBILIDAD DE LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO (PMMoV-I) ESTÁ CONFERIDA POR EL DOMINIO HELICASA.**
Tena, F., Serra-Yoldi, M., y García-Luque, I.
- 12:00-13:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA VI: ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO 2 / EPIDEMIOLOGÍA 2.**
MODERADORES: ANA DÍEZ NAVAJAS Y FERNANDO ESCRIU.
- 12:00-12:15 **SIM-43 INCIDENCIA Y VARIABILIDAD DEL VIRUS DEL ENTRENUDO CORTO INFECCIOSO DE LA VID EN LA COMUNIDAD VALENCIANA.**
Tur, E.L., Bertolini, E., Rubio, L., García, J., Martínez, A., Giménez, J., Yuste, A., Olmos, A.
- 12:15-12:30 **SIM-44 DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *Botrytis cinerea*, *Erysiphe necator* Y *Plasmopara viticola* MEDIANTE PCR MULTIPLEX.**
Huerga, V., Díez-Navajas, A.M.
- 12:30-12:45 **SIM-45 VARIABILIDAD BIOLÓGICA Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES ESPAÑOLAS DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA ALFALFA.**
Bergua, M., Luis-Arteaga, M., Escriu, F.
- 12:45-13:00 **SIM-46 CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN DE *Monilinia fructicola* EN EL VALLE DEL EBRO.**
Villarino, M., Larena, I., Martínez, F., Melgarejo, P., de Cal, A.
- 13:00-13:15 **SIM-47 DIFERENCIAS ENTRE LOS MECANISMOS DE TRANSMISIÓN POR PULGONES DE VIRUS NO PERSISTENTES Y SEMIPERSISTENTES.**
Moreno, A., Fernández, G. y Ferreres, A.
- 13.15-13:30 **SIM-48 EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN CODIFICADO POR EL GEN *FTF1* ES UN FACTOR DE VIRULENCIA ESPECÍFICO DE *Fusarium oxysporum*.**
de Vega-Bartol, J.J., Ramos, B., Martín-Rodríguez, N., Tello, V., García-Sánchez, M.A., Díaz-Minguez, J.M.
- 13:30-15:30 **COMIDA**
- 15:30-17:00 **SESIÓN PLENARIA III: PATOGÉNESIS Y RESISTENCIA.**
MODERADORES: ARANTZA RICO Y LEONARDO VELASCO.
- 15:30-15:45 **PLE-49 HopN1, UNA PROTEÍNA EFECTORA DE *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 QUE INTERFIERE CON LA FOTOSÍNTESIS PARA FAVORECER LA INFECCIÓN EN LA PLANTA.**
Rodríguez-Herva, J. J., Cuartas Lanza, R., González-Melendi, P., Antúnez-Lamas, M., Rodríguez-Palenzuela, P. y López-Solanilla, E.
- 15:45-16:00 **PLE-50 ESTUDIO DEL EFECTO DEL NITRÓGENO EN EL METABOLOMA DEL TOMATE Y ARABIDOPSIS Y SU INFLUENCIA EN LA SUSCEPTIBILIDAD A *Pseudomonas syringae*.**
Rico, A., Steinbrenner, A., Ward, J. L., Beale, M. H., Preston, G. M.
- 16:00-16:15 **PLE-51 EVOLUCIÓN DE LAS POBLACIONES DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* EN ESPAÑA.**
Gómez-Lama, C., Valverde-Corredor, A., y Pérez-Artés, E.

PROGRAMA

- 16:15-16:30 **PLE-52 ESTUDIOS GENÉTICO E HISTOLÓGICO DE *Phytophthora ramorum* EN HOSPEDANTES ORNAMENTALES.**
Pérez Sierra, A., García Breijo, F, Reig, J., Vercauteren, A., Heungens, K., Landeras, E., Abad Campos, P.
- 16:30-16:45 **PLE-53 IDENTIFICACIÓN Y POSIBLE IMPLICACIÓN DE UNA DEAD-BOX HELICASA EN EL CICLO DE INFECCIÓN DE LOS VIRUS DE LA FAMILIA BROMOVIRIDAE.**
Herranz, M.C., Aparicio, F., Sánchez-Navarro, J.A., Diez, J., Pallás, V.
- 16:45-17:00 **PLE-54 LA EXPRESIÓN ECTÓPICA DEL SUPRESOR DE SILENCIAMIENTO P23 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS (CTV) EN NARANJO AMARGO TRANSGÉNICO PERMITE A CTV SUPERAR SU RESTRICCIÓN EN EL MOVIMIENTO CÉLULA A CÉLULA.**
Fagoaga C., Pensabene-Bellavia G., Moreno, P., Navarro, L. y Peña L.
- 17:00-17:30 **CAFÉ**
- 17:30-19:00 **ASAMBLEA DE LA SEF**
- 21:00 **SALIDA PARA LA CENA**

VIERNES, 1 DE OCTUBRE

- 09:00-10:00 **PONENCIA INVITADA IV: Pr. George Sundin. Universidad del Estado de Michigan.**
 PI-7 *Erwinia amylovora* BIOFILMS AND FIRE BLIGHT: FROM BASIC RESEARCH TO FIELD APPLICATIONS OF DISEASE MANAGEMENT.
MODERADOR: JESÚS MURILLO.
- 10:00-11:30 **SESIÓN PLENARIA IV: CONTROL.**
MODERADORES: PABLO CASTILLO Y ANNA BONATERRA.
- 10:00-10:15 **PLE-55 RESPUESTA DE VIDES MICORRIZADAS AL HONGO PATÓGENO *Armillaria mellea*.**
 Nogales, A., Estaún, V., García-Figueroes F., Camprubí A., Calvet C.
- 10:15-10:30 **SIM-27 FACTORES QUE AFECTAN A LOS ENSAYOS DE PATOGENICIDAD Y FUNGICIDAS DE PODA EN SARMIENTO DE VID EN EL CAMPO.**
 Muruamendiáraz, A., Luque, J. y Legorburu, F. J.
- 10:30-10:45 **PLE-57 CONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA RADICULAR DEL AGUACATE MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS.**
 Bonilla, N. , Landa, B., Hermoso, J.M., González, J., Cazorla, F.M., Martínez, M., Gaju, N., de Vicente, A.
- 10:45-11:00 **PLE-58 *PDCYP51B* UNA NUEVA ESTEROL 14 α -DEMÉTILASA DE *Penicillium digitatum* PRINCIPAL RESPONSABLE DE RESISTENCIA A DMIs.**
 de Ramón, M., López, M., González-Candelas, L. Sánchez-Torres, P.
- 11:00-11:15 **PLE-59 DESARROLLO DE UN PRODUCTO DE ORIGEN MICROBIOLÓGICO PARA EL CONTROL DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS.**
 Sarro, A., Ornat, C., Lara, J. M., Sorribas, F. J., Fernández, C.
- 11:15-11:30 **PLE-60 CONTROL DE *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) EN TOMATE MEDIANTE LA RESISTENCIA A *Bemisia tabaci*.**
 Rodríguez-López, M. J., Garzo, E., Bonani, J. P., Fereres, A., Moriones, E., Fernández-Muñoz, R.
- 11:30-12:00 **CAFÉ**
- 12:00-13:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA VII: PATOGENESIS Y RESISTENCIA 3.**
MODERADORES: M.^a CARMEN FAGOAGA Y CÉSAR LLAVE.
- 12:00-12:15 **SIM-61 LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE PROTEÍNAS DE *Tomato chlorosis virus*.**
 Orllío, A. F., Peremyslov, V. V., Dolja V. V., Navas-Castillo, J.
- 12:15-12:30 **SIM-62 ALTERACIONES TRANSCRIPTÓMICAS COMPARADAS DE VARIETADES DE MELON (SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE) INFECTADAS POR EL VIRUS DEL MOSAICO DE LA SANDÍA.**
 Gonzalez-Ibeas, D., Donaire, L., Cañizares, J., Llave, C., y Aranda, M. A..
- 12:30-12:45 **SIM-63 PAPEL DEL FACTOR eIF4E EN LA RESISTENCIA «NON-HOST» DE PLANTAS DE *Nicotiana benthamiana* FRENTE A MNSV.**
 Rodríguez Moreno L., Nieto C., Aranda, M. A., Truniger, V.
- 12:45-13:00 **SIM-64 DOS CAMBIOS NUCLEOTÍDICOS EN LA MOLÉCULA DEL *Citrus exocortis viroid* (CEVd) SUPRIMEN LA EXPRESION DE SÍNTOMAS EN CIDRO ETROG PERO NO EN HUÉSPEDES HERBÁCEOS.**
 Serra, P., Murcia, N., Duran-Vila, N.

PROGRAMA

- 13:00-13:15 **SIM-65 EFECTO PATOGENICO Y LOCALIZACIÓN NUCLEOLAR DE LA PROTEÍNA SUPRESORA DEL SILENCIAMIENTO P23 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS.**
Ruiz-Ruiz, S., Sánchez-Navarro, J., Peña, L., Navarro, L., Moreno, P., Flores, R.
- 13:15-13:30 **SIM-66 UTILIZACIÓN DE VIGS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GENES DEL HOSPEDADOR NECESARIOS PARA LA INFECCIÓN DEL GEMINIVIRUS *Tomato yellow leaf curl virus*, MEDIANTE EL USO DE PLANTAS TRANSGÉNICAS DE *Nicotiana benthamiana* 2IRGFP.**
Rosas-Díaz T., Lozano-Durán R., Bejarano, E. R.
- 12:00-13:30 **SESIÓN SIMULTÁNEA VIII: CONTROL 2.**
MODERADORES: AMAIA ORTIZ Y JOSÉ DÍAZ VARELA.
- 12:00-12:15 **SIM-67 DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL DEL AGENTE DE BIOCONTROL *Penicillium oxalicum* EN SUELO.**
Larena, I., Herranz, Y., Melgarejo, P.
- 12:15-12:30 **SIM-68 PAPEL DE LAS FENGLICINAS PRODUCIDAS POR *Bacillus subtilis* CPA-8 EN LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE *Monilinia* spp. EN MELOCOTÓN.**
Yáñez, V., Zerriouh, H., Viñas, I., Torres, R., Usall, J., de Vicente, A., Pérez-García, A., Teixidó, N.
- 12:30-12:45 **SIM-69 EFICIENCIA EN CAMPO DE VARIOS METODOS DE CONTROL DE NEMATODOS DEL QUISTE DE LA PATATA EN LA COMARCA DE A LIMIA (OURENSE).**
Cabaleiro, C., Pesqueira, A., Couceiro, C., Freitas, A., García, L., Alvarez, S.
- 12:45-13:00 **SIM-70 EL SECTOR REMOLACHERO ANTE LA DIRECTIVA DE USO SOSTENIBLE DE PLAGUICIDAS. ¿MODELO PARA OTROS CULTIVOS?**
Ayala, J., Omaña, J.M., Ortiz, A.
- 13:00-13:15 **SIM-71 RESISTENCIA SISTÉMICA INDUCIDA COMO ESTRATEGIA DE CONTROL ALTERNATIVA FRENTE AL OÍDIO DE CUCURBITÁCEAS.**
García-Gutiérrez, L., Zerriouh, H., Codina, C., de Vicente, A., Pérez-García, A.
- 13:15-13:30 **SIM-72 EFECTO DE LAS FITOHORMONAS EN LA RESISTENCIA DE PIMIENTO FRENTE A *Botrytis cinerea* Y EN LA EXPRESIÓN DEL GEN *CASC1***
Carballeira, R., Veloso, J., Díaz, J.
- 13:30-14:00 **CLAUSURA**

NUMERACIÓN DE LOS RESÚMENES

Existen tres series numéricas, una para las comunicaciones orales, otra para los paneles y la tercera para las Ponencias Invitadas y el Simposio de Genómica. Las tres series siguen un orden cronológico, pero dentro de las comunicaciones orales se distingue entre Plenarias y Simultáneas. De esta manera, la comunicación PLE-6 va seguida por la SIM-7, y la SIM-30 por la PLE-31 etc. Lo mismo sucede con la PI-2, que va seguida por el SG-3.

**LISTA DE
PANELES**



PANELES DE PATOGÉNESIS Y RESISTENCIA

- PAN-1 REDUNDANCIA FUNCIONAL ENTRE EFECTORES TIPO III DE *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola***
Zumaquero, A., Macho, A.P., Rufián, J.S., Beuzón, C.R.
- PAN-2 DISTRIBUCIÓN Y EVOLUCIÓN DE UN OPERÓN IMPLICADO EN LA BIOSÍNTESIS DE LA MANGOTOXINA EN *Pseudomonas syringae***
Carrión, V. J., Arrebola, E., Cazorla, F.M., Murillo, J., de Vicente, A.
- PAN-3 ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS PLÁSMIDOS pPSV48A y pPSV48B DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335**
Castañeda-Ojeda, M.P., Bardaji, L., Murillo, J., Ramos, C.
- PAN-4 NUEVAS PERSPECTIVAS EN LA BIOSÍNTESIS DEL ÁCIDO INDOL 3-ACÉTICO (IAA) Y DE SU CONJUGADO IAA-LYS EN *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*.**
Aragón, I.M., Matas, I.M., Ramos, C.
- PAN-5 ESTRUCTURA POBLACIONAL Y ANÁLISIS DE VIRULENCIA DE *Burkholderia ambifaria*, UN NUEVO PATÓGENO DE LA CEBOLLA**
Jacobs, J. L., McGrath, M., Thiel, B. E., Sundin, G. W.
- PAN-6 ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LOS EUROPEAN STONE FRUIT YELLOWS DE DISTINTAS VARIEDADES Y ESPECIES DE CIRUELO**
Batlle, A., Torres, E., Sabaté, J., Bech, J., Laviña, A.
- PAN-7 EXPRESIÓN DE UNA SESQUITERPENO CICLASA (*casc1*) EN PLANTAS DE PIMIENTO OBTENIDAS EN UN PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DE LA RESISTENCIA FRENTE A *Phytophthora***
Veloso, J., Carballeira, R., Rivera, A., Taboada, A., Moreno, J., Andrés, J.L², Ascasíbar, J., Díaz, J.
- PAN-8 EVALUACIÓN EN CAMPO DE PATRONES DE VID INOCULADOS CON HONGOS ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD DE PETRI Y LA YESCA**
Gramaje, D., García-Jiménez, J., Armengol, J.
- PAN-9 SUSCEPTIBILIDAD DE PATRONES DE VID A *Cylindrocarpon liriodendri* Y *C. macrodidymum***
Alaniz, S., García-Jiménez, J., Abad-Campos, P., Armengol, J.
- PAN-10 COMBINACIÓN DE FACTORES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS QUE INFLUYEN EN EL DEBILITAMIENTO DE *Pinus halepensis* EN ESPAÑA**
Botella, L.; Santamaría, O.; Diez, J.J.
- PAN-11 EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE ALISO A *Phytophthora alni* y OTRAS ESPECIES DEL GÉNERO**
Haque, M. M., Pérez-Sierra, A. and Diez, J.J.
- PAN-12 PATENTE DE PATRONES DE AGUACATE TOLERANTE-RESISTENTES A LA PODREDUMBRE DE RAÍZ CAUSADA POR *Phytophthora cinnamomi* RANDS**
Gallo Llobet, L., Domínguez Correa, P., Siverio, F., Rodríguez Pérez, A.
- PAN-13 EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *Verticillium dahliae* DE CULTIVARES DEL BANCO MUNDIAL DE GERMOPLASMA DE OLIVO**
Birem, F., Mohammad, F., Del Río, C., Caballero, J. M., Blanco-López, M., A., and López-Escudero, F.J.

- PAN-14 **MEJORA DE LOS MÉTODOS DE INOCULACIÓN DE ACEBUCHE CON *Verticillium dahliae***
 Trapero, C., Barranco, D., Rallo, L., López-Escudero, F.J.
- PAN-15 **SELECCIÓN DE PROGENIES DE OLIVO POR SU RESISTENCIA A *Verticillium dahliae***
 Trapero, C., Muñoz-Díez, C., Rallo, L., López-Escudero, F.J., Barranco, D.
- PAN-16 **CARACTERIZACIÓN DE LA VIRULENCIA DE *Colletotrichum acutatum* AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO**
 Xaviér, C.J., Moral, J., Trapero, A.
- PAN-17 **PATOGENICIDAD DE AISLAMIENTOS LOCALES DE *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* Y *Trichothecium roseum* SOBRE TRES VARIEDADES DE ALUBIA DE LEÓN**
 Campelo, M. P., Casado, R. A., Lorenzana, A., Casquero, P. A., Reinoso, B., González, A. J.
- PAN-18 **IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES PMT (Protein O-mannosyltransferase) EN EL HONGO FITOPATÓGENO *Penicillium digitatum***
 Harries, E., Gandía, M., Marcos J.F.
- PAN-19 **CARACTERIZACIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA BIOSÍNTESIS DE QUITINA EN EL HONGO PATÓGENO DE FRUTOS CÍTRICOS *Penicillium digitatum***
 Gandía, M., Harries, E., Marcos J.F.
- Pan 20 **ESTUDIO DEL POSIBLE PAPEL DE LOS ÁCIDOS FENÓLICOS EN LA RESISTENCIA PASIVA O PREEXISTENTE DE LA CAÑA DE AZÚCAR AL CARBÓN.**
 Monge, P., Fontaniella, B., Legaz, M.E. y Vicente, C.
- PAN-21 **CARACTERIZACIÓN DEL GEN *PdMFS1* DE *Penicillium digitatum* IMPLICADO EN RESISTENCIA A FUNGICIDAS Y PATOGENESIS**
 De Ramón, M., López, M., González-Candelas, L., Sánchez-Torres, P.
- PAN-22 **EFFECTOS «IN VITRO» DEL ÁCIDO CAFEICO SOBRE EL CRECIMIENTO DEL HONGO *Sporisorium scitamineum***
 Santiago, R., de Armas, R., Blanch, M., Vicente, C., Legaz, M.E.
- PAN-23 ***Arabidopsis thaliana* Y SUS ENDOFITOS NATURALES: UN SISTEMA MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS FACTORES ECOLÓGICOS Y MOLECULARES IMPLICADOS EN LA EVOLUCIÓN DE LA VIRULENCIA**
 García, E., Alonso, A., Platas, G., Sacristán, S.
- PAN-24 **EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE DISTINTOS AISLADOS DE *Phytophthora capsici* EN DIFERENTES CULTIVARES DE PIMIENTO**
 Gisbert, C., Sánchez-Torres, P., Nuez, F.
- PAN-25 **COMPARACION DE LA VIRULENCIA DE LAS TRES ESPECIES DE *Monilinia* spp. EN EL VALLE DEL EBRO**
 Villarino, M., Melgarejo, P., De Cal, A.
- PAN-26 **VARIACIÓN DE LA COMUNIDAD FÚNGICA ENDOFÍTICA CON LA ESTRUCTURA DE MASAS DE PINO SILVESTRE EN EL NORTE DE ESPAÑA**
 Sanz-Ros, A.V., Müller, M., Díez, J.J.

- PAN-27 IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE RAZAS DE *Bremia lactucae* EN CAMPOS DE CULTIVO COMERCIALES EN ESPAÑA**
García, A., Ursua, B., Murillo, J.
- PAN-28 ESTUDIO DE RESISTENCIA A *Rosellinia necatrix* DE PLANTAS DE FRESA TRANSFORMADAS CON GENES DE *Trichoderma***
Ruano-Rosa, D., Barceló Muñoz, M., Mercado, J.A., Caballero, J.L., Pliego-Alfaro, F., López-Herrera, C. J.
- PAN-29 EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE TOMATE A *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* MEDIANTE ENSAYOS BIOLÓGICOS Y MOLECULARES**
Moyano, C., Herradón, E.
- PAN-30 UTILIZACIÓN DE *Trichoderma* spp. EN EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE CUELLO Y RAÍZ DE ESPÁRRAGO**
González-Domínguez, E., Molinero-Ruiz, M.L., Sánchez-Jimenez, V., Vela-Delgado, M.D., Basallote-Ureba, M.J.
- PAN-31 EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN *ftf1* ESTÁ RELACIONADO CON VIRULENCIA EN AISLADOS DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi***
Gómez-Lama, C., Díaz-Mínguez, J.M., y Pérez-Artés, E.
- PAN-32 ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LAS POBLACIONES DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* BASADO EN SECUENCIAS IGS**
Gómez-Lama, C., Troisi, M., Gullino, M.L., y Pérez-Artés, E.
- PAN-33 EFECTO DE FACTORES DE VIRULENCIA EXTRAIDOS DE *Sporisorium scitamenium* SOBRE LA LIGNIFICACION DE ELEMENTOS CONDUCTORES TRANSVERSALES EN HOJAS DE CAÑA DE AZUCAR**
Alarcón, B., Santiago, R., Vicente Legaz, M.E.
- PAN-34 PAPEL DEL CITOESQUELETO EN LA QUIMIOTAXIS DE TELIOSPORAS DE *Sporisorium scitamineum* INDUCIDA GLICOPROTEÍNAS DE CAÑA DE AZUCAR**
Díaz, E.M., Sacristán, M., Sánchez-Elordi, E., Tirado, S., Quintana, J., Vicente, C., Legaz, M.E.
- PAN-35 EFECTO DE FACTORES DE VIRULENCIA EXTRAÍDOS DE *Sporisorium scitamenium* SOBRE LA ACUMULACIÓN DE LIGNINA Y LA ACTIVACIÓN DE CINNAMIL ALCOHOL DESHIDROGENASAS EN HOJAS DE CAÑA DE AZUCAR**
Sacristán, M., Díaz, E.M., Alarcón, B., de Armas, R., Vicente, C., Legaz, M.E.
- PAN-36 ALGUNOS SÍNTOMAS VISIBLES DE LA ESCALDADURA FOLIAR PUEDEN SER CORRELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE XANTANOS EXOCELULARES POR *Xanthomonas albilineans*.**
Blanch, M., Santiago, R., de Armas, R., Solas, M.T., Vicente, C., Legaz, M.E.
- PAN-37 EMPLEO DE CEPAS DE *Penicillium digitatum* Y *P. expansum* MARCADAS CON PROTEÍNA VERDE DE FLUORESCENCIA (GFP) PARA ESTUDIAR SU PROCESO INFECCIOSO EN NARANJAS Y MANZANAS**
Buron-Moles, G., López-Pérez, M., González-Candelas, L., Torres, R., Teixidó, N., Vilanova, L. y Viñas, I.
- PAN-38 DIFERENCIAS EN LA DIVERSIDAD DE ESPECIES FUNGICAS ENTRE HOJAS JUVENILES Y ADULTAS DE *Eucalyptus globulus* EN PLANTACIONES AFECTADAS POR ENFERMEDAD FOLIAR DE *Mycosphaerella***
Sánchez Marquez, S., Bills, G.F., Zabalgoceazcoa, I.

- PAN-39 SELECCIÓN DE ÁRBOLES PLUS DE *Pinus pinaster* TOLERANTES A *Armillaria ostoyae***
Aguín, O., Solla, A., Cubera, E., Sampedro, L., Mansilla, J.P., Zas, R.
- PAN-40 ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL SISTEMA ENZIMÁTICO DE PEROXIDASAS EN LA INTERACCIÓN TOMATE / *Meloidogyne javanica* COMPATIBLE E INCOMPATIBLE**
Emiliozzi, M., Veronico, P., Melillo, M.T., López-Braña, I. y Andrés M.F.
- PAN-41 RESISTENCIA DE LA VARIEDAD LA1358 DEL TOMATE SILVESTRE *Solanum huaylasense* A *Meloidogyne* spp**
Cortada, L., Manzano, P., Sorribas, F. J., Ornat, C., Verdejo-Lucas, S.
- PAN-42 APLICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES PARA LA RESISTENCIA A NEMATODOS EN EL GÉNERO *Solanum***
López, R., Barandalla, L., Ritter, E., Ruiz de Galarreta, J.I.
- PAN-43 RELACIONES INFECTIVAS *Meloidogyne incognita* y *Phytophthora* spp. EN PATRONES DE PIMIENTO**
Ros, C., Lacasa, C.M., Martínez, V., Martínez, M.C., Lacasa, A.
- PAN-44 COMPORTAMIENTO DE LOS GENES DE RESISTENCIA A *Meloidogyne incognita* EN MONOCULTIVOS DE PIMIENTO DEL SURESTE PENINSULAR**
Ros, C., Martínez, M.C., Cano, A., Robertson, L., Cenis, J.L., Lacasa, A., Bello, A.
- PAN-45 EFECTO DE AISLADOS AUTÓCTONOS DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE EL DESARROLLO DE *Meloidogyne* spp. EN TOMATE**
Abd-Elgawad, M. M. M., Sorribas, F. J., Ornat, C.
- PAN-46 COMPARACIÓN ENTRE ENSAYOS BIOLÓGICOS Y MOLECULARES DE RESISTENCIA A ENFERMEDADES EN HORTÍCOLAS.**
Elvira-Recuenco, M., Moyano, C., Herradón, E., Liñán, M., Paz, L.M.
- PAN-47 PROPIEDADES DE UNIÓN AL ARN VIRAL DE LA PROTEÍNA 3a DEL VIRUS DEL MOTEADO DE LA PARIETARIA**
Martínez, C., Coll, N., Aramburu, J., López, C., Soler, S. y Galipienso, L.
- PAN-48 ACUMULACIÓN EN PLANTA Y TRANSMISIÓN POR TRIPS DE AISLADOS DEL VIRUS DEL BRONCEADO DE TOMATE (TSWV) QUE SUPERAN LA RESISTENCIA CONFERIDA POR LOS GENES *Sw-5* DE TOMATE Y *Tsw* DE PIMIENTO**
Debreczeni, D. E., Belliure, B., Aramburu, J., López, C., Galipienso, L., Soler, S., Rubio, L.
- PAN-49 REQUERIMIENTOS ESTRUCTURALES PARA LA INSERCIÓN Y SALIDA DEL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO DE UNA PROTEÍNA DE MOVIMIENTO VIRAL Y SU INFLUENCIA EN EL MOVIMIENTO DEL VIRUS**
Serra-Soriano, M., Pallás, V., Navarro, J. A.
- PAN-50 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR DE TRANSFORMACIÓN PRECURSOR DE RNA INTERFERENTE FRENTE A MOTIVOS CONSERVADOS DEL EXTREMO 5' DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS**
Chiibi, S., Soler, N., Fagoaga, C., Bouzid, S. y Peña, L.

- PAN-51 LA SOBRE-EXPRESIÓN CONSTITUTIVA DEL GEN p20 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS (CTV) EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE LIMA MEXICANA INDUCE ABERRACIONES EN DESARROLLO**
Romero J., Fagoaga, C., Peña, L.
- PAN-52 EL DOMINIO CONSERVADO DE DEDO DE ZINC Y LOS MOTIVOS BÁSICOS ADYACENTES DEL SUPRESOR DE SILENCIAMIENTO p23 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS (CTV) SON NECESARIOS PARA LA PATOGENESIS EN PLANTAS DE LIMA MEXICANA TRANSGÉNICA**
Soler, N., Fagoaga, C., López, C., Moreno, P., Navarro, L., Flores, R., Peña, L.
- PAN-53 CARACTERIZACIÓN DE UNA PROTEÍNA RELACIONADA CON LA PATOGENESIS PR-4 DE *Capsicum chinense* L³L³ CON ACTIVIDAD RNAsa Y DNAsa**
Guevara-Morato, M.A., García de la Coba, M., García-Luque, I., Serra-Yoldi, M.T.
- PAN-54 RESISTENCIA A VIRUS EN PLANTAS DE MELÓN EN LAS QUE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR EUCARIÓTICO DE INICIACIÓN DE LA TRADUCCIÓN 4E (eIF4E) ESTÁ SILENCIADA**
Gosálvez, B., Rodríguez-Hernández A.M., Burgos, L., Aranda, M.A., Truniger, V.
- PAN-55 DESARROLLO DE UN VECTOR VIRAL DERIVADO DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE**
Sempere, R.N., Gómez, P., Truniger, V., Aranda, M.A.
- PAN-56 INFECCIONES VIRALES Y RESISTENCIA A VIRUS EN POBLACIONES NATURALES DE *Arabidopsis thaliana***
Montes, N., Pagán, I., Fraile, A., Alonso-Blanco, C., y García-Arenal, F.
- PAN-57 TRANSMISIÓN EXPERIMENTAL DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS A UN HUÉSPED NO NATURAL (*Nicotiana benthamiana*)**
Ambrós, S., Moreno, P.
- PAN-58 ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS A UN HUÉSPED NO NATURAL (*Nicotiana benthamiana*)**
Navarro-López, J., Ruiz-Ruiz, S., Moreno, P., Ambrós, S.
- PAN-59 EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *Tomato mosaic virus* EN TOMATE MEDIANTE ENSAYOS BIOLÓGICOS Y MOLECULARES**
Elvira-Recuenco, M., Herradón, E.
- PAN-60 ANÁLISIS DE LA RECUPERACIÓN DE PLANTAS DE *Nicotiana benthamiana* INFECTADAS CON LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO**
Tena, F., Serra-Yoldi, M.T., y García-Luque, I.
- PAN-61 REPRODUCCIÓN Y TRANSMISIÓN DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO NECROTICO DEL HABAA PARTIR DE DNAs CLONADOS DE UN AISLADO ESPAÑOL DEL FBNYV**
Del Cueto-Ginzo, A., Timchenko, T., Grigoras, I., Gronenborn, B., Romero, J.
- PAN-62 CALIDAD BIOLÓGICA Y SUPRESIVIDAD NATURAL A LA VERTICILIOSIS DE SUELOS DE OLIVAR BAJO DISTINTOS SISTEMAS DE MANEJO**
Montes-Borrego, M., Aranda, S., Palomares-Rius, J.E., Jiménez-Díaz, R.M., Navas-Cortés, J.A., Castillo, P., Landa, B.B.
- PAN-63 CONTROL DE LA NECROSIS FOLIAR DEL CAQUI, CAUSADA POR *Mycosphaerella nawae***
Berbegal, M., Armengol, J., García-Jiménez, J.

- PAN-64 LA VIRULENCIA ES ESPECÍFICA DE HOSPEDADOR EN *Fusarium oxysporum* Y ESTÁ CORRELACIONADA CON LA EXPRESIÓN DEL GEN *FTF1***
de Vega-Bartol, J.J., Martín-Domínguez, R., Tello, V., Ramos, B., García-Sánchez, M.A., y Díaz-Mínguez, J.M.
- PAN-65 INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE CITRICOS BAJO DISTINTAS ESTRATEGIAS DE RIEGO DEFICITARIO**
Frías, J., Aguado, A., Capote, N., Caballero, A., de los Santos, B., Muriel, J.L., Romero, F.
- PAN-66 CAPACIDAD DE SUPERVIVENCIA DE *Phaeoconiella chlamydospora* EN SUELO EN AUSENCIA DE HUESPED**
Tello, M. L., González, V.
- PAN-67 LA RIZOSFERA DE ACEBUCHES UNA FUENTE INEXPLORADA DE *Bacillus* spp. CON ENORME POTENCIAL ANTAGONISTA FRENTE A *Verticillium dahliae***
Montes-Borrego, M., Aranda, S., Durán, F.J., Mora, I., Cabrefiga, J., Montesinos, E., Landa, B.B.
- PAN-68 SELECCIÓN DE POBLACIONES VIRULENTAS DE *Meloidogyne javanica* EN CAMPO TRAS EL CULTIVO REITERADO DE PATRONES DE TOMATE PORTADORES DEL GEN *Mi*.**
Verdejo-Lucas, S., Cortada, L., Sorribas, F. J., Ornat, C.
- PAN-69 ALTERACIONES EN LA POBLACIÓN DE sRNAs PROVENIENTES DE TEJIDO FOLIAR Y FLOEMÁTICO EN PLANTAS DE PEPINO INFECTADAS CON EL VIROIDE DEL ENANISMO DEL LUPULO (HSVd)**
Martínez, G., Donaire, L., Llave, C., Pallás, V., Gómez, G.
- PAN-70 IMPLICACIÓN DEL EXTREMO C-TERMINAL DE LA PROTEÍNA DE MOVIMIENTO DEL VIRUS DE LOS ANILLOS NECRÓTICOS DE LOS PRUNUS (PNRSV) EN EL TRANSPORTE A CORTA DISTANCIA Y EN LA INTERACCIÓN CON LA PROTEÍNA DE CUBIERTA**
Aparicio, F., Pallás, V., Sánchez-Navarro, J.A.

PANELES DE GENÓMICA

- PAN-71 IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE ELEMENTOS TRANSPONIBLES EN *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola 1448A**
Yanguas-Casás, N., Bardaji, L., Martínez-Bilbao, A., Murillo, J.
- PAN-72 ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO Y FUNCIONAL DE EFECTORES DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III EN *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335**
Antúnez-Lamas, M., Matas, I.M., Castañeda-Ojeda, M.P., Aragón, I.M., López-Solanilla, E., Murillo, J., Rodríguez-Palenzuela, P., Ramos, C.
- PAN-73 IDENTIFICACIÓN DE GENES DEL AGENTE DE BIOCONTROL *Pseudomonas pseudoalcaligenes* AVO110 IMPLICADOS EN LA INTERACCIÓN CON EXUDADOS DEL HONGO FITOPATÓGENO *Rosellinia necatrix***
Crespo-Gómez J.I., Pliego, C., de Vicente, A., Cazorla, F.M., Ramos, C.
- PAN-74 CARACTERIZACIÓN DE LAS BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA AL FALLADO DEL ARROZ EN VARIEDADES EUROPEAS DE ARROZ**
Osca, J.M., Catala, M.M., Aguilar, M., Carreres, R., Tharreau, D., Torró, I., Pla, E., Bretó, M.P., Domingo, C., Marqués, L., Baixauli, C.
- PAN-75 EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Y SUS EXTRACTOS SOBRE AISLADOS DE *Verticillium dahliae* Y *Phytophthora* spp. PATÓGENOS DEL OLIVO**
Lozano, M.D., Ortiz-Urquiza, A., Roca, L.F., Trapero, A.
- PAN-76 EFECTO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS SOBRE LA DENSIDAD DE INÓCULO DE *Phytophthora cinnamomi***
Vicente Dominguez, M., Fernández-Rebollo, P., Trapero, A.
- PAN-77 DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA POBLACIÓN PATÓGENA DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* EN EL SUROESTE DE ESPAÑA**
Castaño, R., Avilés, M.
- PAN-78 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS DE *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, CAUSANTE DE LA SIGATOKA NEGRA DEL BANANO, AL FUNGICIDA BENOMYL**
Sandoval-Jiménez, D.E., Guzmán-González, S., Orozco-Santos, M., Manzo-Sánchez, G.,
- PAN-79 CONTROL BIOLÓGICO DE *Meloidogyne incognita* MEDIANTE UN FORMULADO DE *Paecilomyces lilacinus* Y *Trichoderma harzianum*, EN PLANTAS DE *Capsicum annuum*.**
Requena, A.M^a., Gonzalez-Ramiro, L., Eziyyani, M., Egea-Gilabert, C., Requena, M^a.E., Candela, M^aE.
- PAN-80 DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UN VECTOR VIRAL BASADO EN EL VIRUS DEL MANCHADO FOLIAR DE LOS CÍTRICOS**
Agüero, J., Ruiz-Ruiz, S., Velázquez, K., Navarro, L., Moreno, P., Vives, M.C., Guerri, J.
- PAN-81 *Citrus leaf blotch virus*: CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR DEL RNA SUBGENÓMICO DEL GEN DE LA PROTEÍNA DE LA CÁPSIDA EN SU CONTEXTO NATURAL**
Renovell, A., Gago, S., Ruiz-Ruiz, S., Velázquez, K., Navarro, L., Moreno, P., Guerri, J., Vives, M.C.

LISTA DE PANELES

- PAN-82 SENSIBILIDAD DE ESPECIES E HÍBRIDOS DEL GÉNERO *Citrus* Y OTROS AFINES AL VIRUS DE LA PSORIASIS DE LOS CÍTRICOS**
Velázquez, K., Alba, L., Zarza, O., Vives, M.C., Pina, J.A., Navarro, L., Moreno, P., Guerri, J.
- PAN-83 SECUENCIA NUCLEOTIDICA DEL VIRUS DEL MOSAICO SUAVE DE LA ORTIGA BLANCA**
Rangel, E., Ferriol, I., Rubio, L.

PANELES DE EPIDEMIOLOGÍA

- PAN-84 CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MOLECULAR, MEDIANTE MACRORRESTRICCIÓN GENÓMICA CON Pmel Y Swal, DE AISLAMIENTOS DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* OBTENIDOS DE MALAS HIERBAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE JUDÍA**
Fernández, A. M., Rodicio, M.R., González, A. J.
- PAN-85 PRESENCIA EPIFITA DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* en *Solanum nigrum* ASOCIADO AL CULTIVO DE JUDÍA GRANJA ASTURIANA**
Fernández, A. M.; Rodicio, M.R.; González, A. J.
- PAN-86 ESTRATEGIAS DE SUPERVIVENCIA DE *Ralstonia solanacearum* FILOTIPO II FRENTE A FACTORES DE ESTRÉS ABIÓTICO EN MICROCOSMOS DE AGUA MEDIOAMBIENTAL**
Álvarez, B., López, M.M., Biosca, E.G.
- PAN-87 SUPERVIVENCIA DE *Erwinia amylovora* EN *Ceratitis capitata*, LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA**
Ordax, M., Piquer-Salcedo, J.E., Sabater-Muñoz, B., Biosca, E.G., López, M.M., Marco-Noales, E..
- PAN-88 SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO DE *Xanthomonas citri* subsp. *citri* SOMETIDA A ESTRÉS POR COBRE Y A BAJA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES: INDUCCIÓN DEL ESTADO VIABLE NO CULTIVABLE Y RESUCITACIÓN**
Golmohammadi, M., Cubero, J., López, M.M., Llop, P.
- PAN-89 RECUPERACIÓN *IN VIVO* DE CÉLULAS VIABLES NO CULTIVABLES DE *Erwinia amylovora* EN PLÁNTULAS DE PERAL**
Santander, R.D., Català-Senent, J., Marco-Noales, E., Biosca, E.G.
- PAN-90 EXPRESIÓN DEL GEN *RpoS* EN *Erwinia amylovora* EN CONDICIONES DE ESTRÉS POR COBRE**
Águila-Clares, B., López, M.M., Bertolini, E., Marco-Noales, E.
- PAN-91 IDENTIFICACIÓN DE VECTORES POTENCIALES DEL FYTOPLASMA *Candidatus Phytoplasma mali*, EN DISTINTAS ÁREAS DE CULTIVO DE MANZANO**
Sabaté, J., Laviña, A., Battlle, A.
- PAN-92 DINÁMICA A LARGO PLAZO DE ESPECIES DEL GÉNERO *Fusarium* EN MUESTRAS DE TRIGO PROCEDENTES DEL EXPERIMENTO BROADBALK (1844-2009) EN EL REINO UNIDO**
Fernández-Ortuño, D., Shaw, M.W., Fraaije, B.A.
- PAN-93 AEROBIOLOGÍA DE *Diplodia seriata*, AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD DEL BRAZO MUERTO DE LA VID, EN DOS VIÑEDOS DE CATALUNYA Y RIOJA ALAVESA**
Luque, J., Muruamendiaraz, A., Legorburu, F. J.
- PAN-94 LAS MALAS HIERBAS EN EL CULTIVO DE LA VID COMO HOSPEDANTES ALTERNATIVOS DE HONGOS ASOCIADOS A LAS ENFERMEDADES DE PETRI Y PIE NEGRO.**
Agustí-Brisach, C., Gramaje, D., León, M., García-Jiménez, J., Armengol, J.

- PAN-95 ESPECIES DE CRUCÍFERAS Y LEGUMINOSAS DE INTERÉS COMO CUBIERTA VEGETAL EN OLIVAR POR SU NIVEL DE RESISTENCIA A LA VERTICILLOSIS**
 Bejarano Alcázar, J., Rodríguez Jurado, D.
- PAN-96 PROSPECCIÓN DE SUELOS Y AGUAS DE RIEGO DE GALICIA Y DETECCIÓN DE *Phytophthora capsici* Y *P. nicotianae* POR PCR**
 Veloso, J., Carballeira, R., Ares, A., Rivera, A., Taboada, A., Pomar, F., Ascasíbar, J., Díaz, J.
- PAN-97 MODELIZACIÓN DEL EFECTO DIFERENCIAL DE LA TEMPERATURA DE SUELO Y PATOTIPOS DE *Verticillium dahliae* EN CULTIVARES DE OLIVO**
 Trapero-Casas, J.L., Lucena, C., y Navas-Cortés, J.A.
- PAN-98 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y DEL TIEMPO DE HUMECTACIÓN EN LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO CAUSADA POR *Colletotrichum acutatum***
 Jurado, J., Moral, J., Trapero, A.
- PAN-99 INCIDENCIA DE LA MANCHA MARRÓN DE LA MANDARINA FORTUNE EN MURCIA**
 Guerrero, M.M., Martínez, M.A., Martínez, M.C., Nemsá, I., Álvarez, N., Porras, I., Lacasa, A.
- PAN-100 GERMINACIÓN DE LOS CUERPOS HIFALES (ESPORANGIOS) DE *Pythium spiculum*, PATÓGENO RADICAL DE LA ENCINA Y EL ALCORNOQUE**
 De Vita, P., Serrano, M.S., Callier, P., García L.V., Trapero, A. y Sánchez, M.E.
- PAN-101 SUSCEPTIBILIDAD DIFERENCIAL A *Phytophthora cinnamomi* DE PLANTAS PROCEDENTES DE DISTINTOS TIPOS DE ENCINAS**
 Serrano, M.S., Fernández, F., De Vita, P., Callier, P., Sánchez, M.E., Trapero, A., Fernández-Rebollo, P.
- PAN-102 SEGUIMIENTO DE *Botrytis cinerea* EN INVERNADEROS COMERCIALES DE TOMATE EN TENERIFE**
 Rodríguez Pérez, A., De León Guerra, L., Domínguez Correa, P., Gallo Llobet, L.
- PAN-103 EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPORAS DE *Uncinula necator* EN UN VIÑEDO COMO ESTRATEGIA DE CONTROL DE PLAGAS**
 Fernández-González, M., Rodríguez-Rajo, F.J., Aira, M.J., Jato, V.
- PAN-104 INTERACCIONES TRÓFICAS ENTRE *Ips sexdentatus* Y *Ophiostoma ips***
 Lombardero, M.J., Vázquez-Ruiz de Ocenda, R.A.
- PAN-105 HONGOS DEL AZULADO ASOCIADOS A *Tomicus piniperda* EN GALICIA**
 Vázquez-Ruiz de Ocenda, R.A., Saa, A. y Lombardero, M.J.
- PAN-106 ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Monilinia fructigena*.**
 Gell, I., Larena, I., Melgarejo, P., y De Cal, A.
- PAN-107 COMPORTAMIENTO SANITARIO DE HONGOS PATÓGENOS EN CEREALES DE INVIERNO Y PRIMAVERA DURANTE LA CAMPAÑA 2008-2009**
 Ortiz V.

- PAN-108 PRINCIPALES PROBLEMAS DE PODREDUMBRE DE RAÍZ EN ECOSISTEMAS FORESTALES DE PAÍS VASCO**
Mesanza, N., Isasmendi, A., Saenz de Urturi, F., Iturritxa, E.
- PAN-109 LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO EN EUCALIPTOS DEL PAÍS VASCO**
Iturritxa, E., Mesanza, N., Quintana, E.
- PAN-110 DINÁMICA DE *Fusarium circinatum* EN PLANTACIONES DE NUEVO ESTABLECIMIENTO DE *Pinus radiata* DEL NORTE DE ESPAÑA**
Quintana, E., Iturritxa, E.
- PAN-111 EVALUACION DE LA EFICACIA DE UNA BATERÍA DE FORMULADOS BIOLÓGICOS FRENTE A LA MARCHITEZ VASCULAR DEL TOMATE**
Vázquez, G., Larena, I., Melgarejo, P., De Cal, A.
- PAN-112 IMPORTANCIA RELATIVA DE LAS FUENTES DE INÓCULO PRIMARIO Y SECUNDARIO DE *Monilinia spp.* EN LA INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD EN MELOCOTONEROS DEL VALLE DEL EBRO**
Villarino, M., Melgarejo, P., Usall, J., Segarra, J., De Cal, A.
- PAN-113 EPIDEMIOLOGÍA DE *Fusarium circinatum* EN PLANTACIONES FORESTALES DE GIPUZKOA**
Berra, D., Urkola, A.
- PAN-114 VIRULENCIA DE AISLADOS DE *Verticillium dahliae* ORIGINARIOS DE LAS AGUAS DE RIEGO DE OLIVAR EN ANDALUCÍA SOBRE OLIVO**
Moraño Moreno, R., Bejarano Alcázar, J., Rodríguez Jurado, D.
- PAN-115 EFECTO DE LA DOSIS Y FRECUENCIA DE RIEGO SOBRE LOS NIVELES DE DISTINTOS PROPÁGULOS DE *Verticillium dahliae* EN EL SUELO**
Moraño Moreno, R., Bejarano Alcázar, J., Rodríguez Jurado, D.
- PAN-116 INCIDENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL CHANCRO DEL CASTAÑO EN EL PRINCIPADO DE ASTURIAS**
González-Varela, G., González, A. J.
- PAN-117 COLONIZACIÓN DE LAS HERIDAS DE PODA DE LA VID POR HONGOS PATÓGENOS CAUSANTES DE ENFERMEDADES DE LA MADERA EN UN VIÑEDO DEL PENEDÉS (CATALUÑA)**
Luque, J., García-Figueres, F., Reyes, J., Barrios, G.
- PAN-118 ANÁLISIS DEL PAPEL DE LOS VIRUS EN LA DINÁMICA DE LA POBLACIÓN DEL PIMIENTO SILVESTRE, *Capsicum annuum* var. *aviculare*, EN MÉXICO**
González-Jara, P., Rodelo-Urrego, M., Fraile, A., Piñero, D., García-Arenal, F.
- PAN-119 ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LA POBLACIÓN DE BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN AL PIMIENTO SILVESTRE (*Capsicum annuum* var. *aviculare*) EN MÉXICO**
Rodelo-Urrego, M., González-Jara, P., Betancourt, M., Pagán, I., Ayllón, M.A., Fraile, A., Piñero, D. y García-Arenal, F.
- PAN-120 ESTUDIO PRELIMINAR PARA DETERMINAR LA TRANSMISIÓN POR SEMILLA DEL VIRUS DEL TORRADO DEL TOMATE (ToTV)**
Alfaro-Fernández, A., Cebrián, M.C., Córdoba-Sellés, M.C., Font, M.I., Juárez, M., Jordá, C.

- PAN-121 CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y MOLECULAR DE DISTINTOS AISLADOS ESPAÑOLES DE *Pepino Mosaic Virus* (PepMV)**
Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Herrera-Vásquez, J.A., Cebrián, M.C., Jordá, C.
- PAN-122 CUANTIFICACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS INFECCIONES CON AISLADOS NO AGRESIVOS DE *Pepino Mosaic Virus* (PepMV) EN CULTIVOS COMERCIALES DE TOMATE**
Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Herrera-Vásquez, J.A., Cebrián, M.C., Font, M.I., Jordá, C., Guerrero, M.M., Lacasa, A., Juárez, M.
- PAN-123 EVOLUCIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES ESPAÑOLAS DE *Pepino Mosaic Virus* (PepMV)**
Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Herrera-Vásquez, J.A., Cebrián, M.C., Font, M.I., Jordá, C.
- PAN-124 TRANSMISIBILIDAD DE BCMV EN SEMILLA DE VARIEDADES LOCALES DE ALUBIA DE LEÓN INFECTADAS NATURALMENTE Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD**
Campelo, M. P., Reinoso, B., González, A. J.
- PAN-125 VARIABILIDAD GENÉTICA Y EVOLUCIÓN DEL VIRUS DEL AMARILLO DE LAS CUCURBITÁCEAS TRANSMITIDO POR PULGONES EN EL SURESTE ESPAÑOL**
Kassem, M., Juárez, M., Aranda, M.A.
- PAN-126 ESTUDIO DE LA GAMA DE HUÉSPEDES DEL VIRUS DEL AMARILLO DE LAS CUCURBITÁCEAS TRANSMITIDO POR PULGONES (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*, CABYV) EN CULTIVOS Y FLORA ARVENSE DEL SURESTE ESPAÑOL**
Sánchez, J.M., Gómez, P., Kassem, M., Aranda, M.A., Juárez, M.
- PAN-127 BÚSQUEDA DE HOSPEDANTES ALTERNATIVOS DEL *Iris yellow spot virus* (IYSV) EN LA PROVINCIA DE ALBACETE**
Muñoz, R. M., Lerma, M. L., Mansilla, J., Castillo, P.
- PAN-128 LOS AISLADOS ESPAÑOLES DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO NECRÓTICO DEL HABA (FBNYV) CONSTITUYEN UNA POBLACIÓN VIRAL ESTABLECIDA EN LA REGIÓN**
Navarro, E., Del Cueto-Ginzo, A., Carazo, G., Romero, J.

PANELES DE ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

- PAN-129** *Spiroplasma citri* Y ASTER YELLOWS IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE AMARILLOS, ENROJECIMIENTOS Y DEFORMACIONES EN LOS CULTIVOS DE ZANAHORIA EN ESPAÑA
Font, M.I., Cebrián, M.C., Villaescusa, F.J., Alfaro-Fernández, A., Córdoba-Sellés, M.C., Ferrándiz, J. C., Sanjuán, S., Reyes J.A., Siverio, F., Jordá, C., Hermoso de Mendoza, A.
- PAN-130** PRIMERA DETECCIÓN DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* EN TITARRO (*Lathyrus cicera* L.)
Palomo, J.L., Martín-Sanz, A., Pozo, B., García, C.A., Rodríguez, M.J., Caminero, C.
- PAN-131** DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* PROCEDENTES DE VEZA (*Vicia sativa* L.)
Martín-Sanz, A., Palomo, J.L., Pozo, B., García, C.A., Rodríguez, M.J., Caminero, C.
- PAN-132** EVALUACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE PCR A TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* EN SEMILLA DE JUDÍA
Palomo, J.L., Quintano, B., García-Benavides, P.
- PAN-133** *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, CAUSANTE DE LA MANCHA BACTERIANA DE LOS FRUTALES DE HUESO, IDENTIFICADA POR PRIMERA VEZ EN EUROPA EN ALMENDRO
Roselló, M., Palacio-Bielsa, A., Cambra, M. A., Morente C., López, M.M.
- PAN-134** ASTER YELLOWS Y STOLBUR: FITOPLASMAS IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE NUEVAS SINTOMATOLOGÍAS EN CULTIVOS DE APIO Y CHIRIVÍA EN ESPAÑA.
Cebrián, M.C., Villaescusa, F.J., Jordá, C., Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Ferrándiz, J. C., Sanjuán, S., Hermoso de Mendoza, A., Font, M.I.
- PAN-135** PRIMERA DETECCIÓN DE 'Candidatus Phytoplasma asteris' EN ARROZ EN ESPAÑA
Cebrián, M.C., Villaescusa, F.J., Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Jordá, C., Font, M.I.
- PAN-136** ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE VIROSIS EN LOS CULTIVOS DE TOMATE DEL SURESTE PENINSULAR ESPAÑOL
Juárez, M., Agulló D., Font, M.I., Córdoba-Sellés, M.C., Cebrián, M.C., Alfaro, A.O., Jordá, C.
- PAN-137** PROSPECCIÓN DE 'Candidatus Liberibacter spp.', CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD DE «HUANGLONGBING» EN CÍTRICOS
Bertolini, E., Arilla, A., Cambra, M., López, M.M., Siverio, F., Bové, J.
- PAN-138** LA NECROSIS APICAL DEL MANGO EN CANARIAS, ¿UNA ETIOLOGÍA ALTERNATIVA
Gutiérrez-Barranquero, J.A., Cazorla, F.M., Arrebola, D., Codina, J.C., Fernández-Galván, D., de Vicente, A.
- PAN-139** PRESENCIA DE *Ewingella americana* EN CULTIVOS DE *Agaricus bisporus* Y *Pleurotus ostreatus* DE CASTILLA-LA MANCHA
González, A. J., Fernández, A. M., Navarro, M.J., Gea, F.J.

- PAN-140 BIOTA BACTERIANA EN SEMILLAS DE JUDÍA CONSERVADAS EN EL CENTRO DE RECURSOS FITOGENÉTICOS (CRF-INIA).**
González, A. J., Fernández, A. M.
- PAN-141 EL FITOPLASMA DE LA MARCHITEZ AMARILLA DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE CHILE REPRESENTA UN NUEVO SUBGRUPO DEL GRUPO 16S RIII**
Romero, J., Castro, S., Carazo, G.
- PAN-142 MANCHA BACTERIANA CAUSADA POR *Pseudomonas tolaasii* Y *P. reactans* EN CULTIVOS DE *Pleurotus eryngii* DE CASTILLA-LA MANCHA.**
González, A. J., Fernández, A. M., Navarro, M.J., Gea, F.J.
- PAN-143 DETECCIÓN DE FITOPLASMAS DEL GRUPO 16Sr-X, MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL Y PCR-NIDO**
Bech, J., Torres, E., Laviña, A., Sabaté, J., Batlle, A.
- PAN-144 PROSPECCIÓN DE HONGOS BASIDIOMICETOS QUE CAUSAN PODREDUMBRE DE MADERA EN JARDINES Y ARBOLADO URBANO**
Pérez-Sierra, A., León, M., Martínez, O., De Luca, V., Armengol, J.
- PAN-145 CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Cadophora luteo-olivacea* y *C. melinii* OBTENIDOS EN VIVEROS Y PLANTAS DE VID EN ESPAÑA**
Gramaje, D., Mostert, L., Armengol, J.
- PAN-146 EFECTO DE LA PRESENCIA DE DOBLES CADENAS DE ARN EN LA VARIABILIDAD FENOTÍPICA Y LA PRODUCCIÓN DE PERITECIOS DE *Monosporascus cannonballus***
Armengol, J., Alaniz, S., Vicent, A., Beltrán, R., Abad-Campos, P., Pérez-Sierra, A., García-Jiménez, J., Ben Salem, I., Boughalleb, N.
- PAN-147 IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Phytophthora* EN VIVEROS DE PLANTAS ORNAMENTALES**
Mora Sala, B., Pérez-Sierra, A., León, M., García-Jiménez, J., Abad-Campos, P.
- PAN-148 LA PODREDUMBRE DE LA BASE DEL TALLO DEL CALABACÍN CAUSADA POR *Phytophthora capsici***
Gómez, J., Aguilar M.I., Abad, Z.G. y Serrano, Y.
- PAN-149 UTILIZACIÓN DE CARACTERES MORFOLÓGICOS Y TÉCNICAS MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Stemphylium vesicarium***
Puig, M., Ruz, L., Moragrega, C., Montesinos, E., Llorente, I.
- PAN-150 PATOGENICIDAD DE *Pythium spiculum* EN *Quercus suber***
De Vita, P., Serrano, M.S., Callier, P., Ramo, C., Trapero, A., Sánchez, M.E.
- PAN-151 LA MALFORMACIÓN DEL MANGO EN LA AXARQUÍA; ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO.**
Crespo-Palomo, M., Cazorra, F.M., Hermoso, J.M., Guirado, E., Gutiérrez-Barranquero, J.A., Torés, J.A., de Vicente, A.
- PAN-152 DETECCIÓN DE *Fusarium oxysporum* COMO CAUSANTE DE LA MARCHITEZ VASCULAR EN DIPLADENIA (*Mandevilla sanderi*)**
Raya, M.C., López Reina M.C. , Azpilicueta A.

- PAN-153** **FILOGENIA MOLECULAR DE ASCOMICETES DE LA FAMILIA *Ophiostomataceae* ASOCIADOS CON EL AZULADO DE *Pinus radiata* EN ESPAÑA, CON LA DESCRIPCIÓN DE DOS NUEVAS ESPECIES Y DOS NUEVAS COMBINACIONES**
Romón, P., Zhou, Z.D., De Beer, Z.W., Goldarazena, A., Wingfield, M.J.
- PAN-154** **PRESENCIA DE VIRUS Y HONGOS PATÓGENOS DE LA MADERA DE LA VID EN MATERIAL DESTINADO A NUEVAS PLANTACIONES**
Lerma, M. L., Armengol, J., García-Jiménez, J., Gramaje, D., Castillo, P., Muñoz, R. M.
- PAN-155** **ACERCA DE LA VARIABILIDAD DE AISLADOS ESPAÑOLES DE *Phaeomoniella chlamydospora*, AGENTE ETIOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE PETRI EN VID**
González, V., Tello, M. L.
- PAN-156** **DISEÑO DE CEBADORES ESPECÍFICOS PARA LA DETECCIÓN DE *Diplodia seriata* A PARTIR DE SCAR**
Martín, M.T., Cuesta, M.J., Martín, L.
- PAN-157** **IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DEL DECAIMIENTO DE LA MADERA DEL OLIVO EN CALIFORNIA**
Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., Gubler, W. D.
- PAN-158** **LA NECROSIS FOLIAR DEL HINOJO CAUSADA POR *Alternaria petroselini***
Bassimba, D.D.M., Baixauli, C., Vicent, A.
- PAN-159** **ESTUDIOS DE PATOGENICIDAD DE HONGOS DE MADERA EN VARIEDADES DE ALMENDRO DE MALLORCA**
Nieto, A., Sastre-Conde I., Moralejo, E., Olmo, D.
- PAN-160** **DIVERSIDAD DE *Pythium* Y *Phytophthora* EN ENCINARES DE MENORCA AFECTADOS POR *Lymantria dispar***
Moralejo, E., Núñez-Vázquez, L., Closa, S., Barceló, A., Descals, E.
- PAN-161** **DAÑOS OCASIONADOS POR EL MIXOMICETO *Physarum compressum* EN CULTIVOS DE SETA DE CHOPO (*Agrocybe aegerita*)**
Gea, F.J., Martínez-Carrasco, A., Lainez, M.C., Navarro, M.J.
- PAN-162** **PRESENCIA DE *Trichoderma pleurotum* EN CULTIVOS DE SETAS (*Pleurotus ostreatus*)**
Gea, F.J., Lainez, M.C., Zied, D.C., Navarro, M.J.
- PAN-163** **AGENTES CAUSALES Y FACTORES QUE PREDISPONEN AL DECAIMIENTO DEL ESPÁRRAGO EN GAVÀ, BARCELONA**
El Bakali, M.A., García-Figueres, F., Monton, C., Valero, J., López, D., Carazo, N., Ornat, C., Sorribas, F. J.
- PAN-164** **ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Cryphonectria parasitica* EN GALICIA MEDIANTE MICROSATELITES**
Aguín, O., Montenegro, D., Mansilla, J.P.
- PAN-165** **PROSPECCIÓN DE *Phytophthora* spp. EN SUELOS DE FRONDOSAS DE LA PROVINCIA DE PONTEVEDRA**
Mansilla, J.P., Rial, C., Pintos, C., Aguín, O. y Redondo, V.
- PAN-166** **PROBLEMAS FITOPATOLÓGICOS EN *Buxus sempervirens* DE GALICIA**
Mansilla, J.P., González-Penalta, B., Pintos, C., Pérez- Otero, R., Aguín, O., Rial, C., Redondo, V.

- PAN-167 PROSPECCIÓN DE *Phytophthora alni* EN ALISEDAS GALLEGA**
Pintos, C., Mansilla, J.P., Rial, C., Aguín, O. y Redondo, V.
- PAN-168 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE NEMATODOS LONGIDÓRIDOS EN VIÑEDOS DE ANDALUCÍA**
Gutiérrez-Gutiérrez, C., Palomares-Rius, J.E., Cantalapiedra-Navarrete, C., Landa, B.B., Castillo, P.
- PAN-169 ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *Xiphinema pachtaicum* Y *X. index* BASADA EN ADN MITOCONDRIAL Y NUCLEAR**
Palomares-Rius, J.E., Gutiérrez-Gutiérrez, C., Cantalapiedra-Navarrete, C., Landa, B.B., Castillo, P.
- PAN-170 ESPECIES DE *Bursaphelenchus* DETECTADAS EN GALICIA**
Abelleira, A., Picoaga, A., Aguín, O., Mansilla, J.P.
- PAN-171 VALIDACIÓN DE «TISSUE-PRINT» RT-PCR A TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE *Citrus tristeza virus*. COMPARACIÓN CON INMUNOPRESIÓN-ELISA Y CÁLCULO DE PARÁMETROS DE DIAGNÓSTICO**
Vidal, E., Yokomi, R.K., Moreno, A., Bertolini, E., Pina, J.A., Martínez, M.C., Corrales, A.R., Cambra, M.
- PAN-172 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL RNA2 DE UN AISLADO DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL ARABIS INFECTANDO VID EN ESPAÑA. DISEÑO DE UN MÉTODO MOLECULAR DE DIAGNÓSTICO**
López-Fabuel, I., Bertolini, E., Rubio, L., Legorburu, F.J., Olmos, A.
- PAN-173 PRIMERA DETECCIÓN EN ESPAÑA DE *Pineapple mealybug wilt virus* EN PIÑA TROPICAL**
Espino, A.I., González, A., Rúas, C., Botella, M.
- PAN-174 DETECCIÓN DE NUEVAS VIROSIS EN CUCURBITÁCEAS (BPYV, CABYV Y CVYV) EN LA ISLA DE TENERIFE**
Espino, A.I., Botella, M., González, A., Rúas, C., Aguilar, J., de Paz, I.
- PAN-175 PRIMERA DETECCIÓN DE *Grapevine leafroll-associated virus 4* EN ESPAÑA**
Padilla, C.V., López, N., Cretazzo, E., García de Rosa, B., Padilla, V., Hita, I., Velasco, L.
- PAN-176 DETECCIÓN DE *Eggplant mottled dwarf virus* EN ORNAMENTALES EN ESPAÑA**
Alfaro-Fernández, A., Córdoba-Sellés, M.C., Tornos, T., Cebrián, M.C., Font, M.I.
- PAN-177 DETECCIÓN EN CATALUNYA DE *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) EN COL CHINA: SINTOMATOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO**
Tornos, T., Cebrián, M.C., Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Martí M., Ariño J., Font, M.I.
- PAN-178 INCIDENCIA DE *Leek yellow stripe virus* (LYSV) Y *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) EN AJO DE VALLELADO (SEGOVIA)**
Lorenzana, A., Campelo, M. P., Marcos, M.F., Lorenzana, S., Gómez-Bernardo, E.M., Gil, P., Rincón, R., Martín, C., Ortega, I.
- PAN-179 DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE LOS PRINCIPALES VIRUS QUE AFECTAN AL CULTIVO DE CLAVEL Y GERBERA MEDIANTE LA TECNOLOGÍA DE POLISONDAS**
Genovés, A., Peiró, A., Pallás, V., Sánchez-Navarro, J.A., Cano, E.

PANELES VARIOS

- PAN-180 DIVERSIDAD PATOGENICA ENTRE GRUPOS DE COMPATIBILIDAD MICELIAR DE *Sclerotium rolfsii***
Remesal, E., Jordán-Ramírez, R., Jiménez-Díaz, R.M., y Navas-Cortés, J.A.
- PAN-181 VISUALIZACIÓN DEL PROCESO DE INFECCIÓN DE *Fusarium circinatum* EN *Pinus radiata* MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL**
Martín-Rodríguez, N., Espinel Marzo, S., Ortiz-Barredo, A.
- PAN-182 «LAS MORCILLAS»: UN PROBLEMA DE ORIGEN DESCONOCIDO QUE AFECTA A ENCINAS TRUFERAS**
Zuriaga, P., Pérez, V.
- PAN-183 DESARROLLO DE CLONES DE cDNA DE LONGITUD COMPLETA DEL VIRUS 1 DEL MARCHITAMIENTO DEL HABA Y OBTENCIÓN DE TRANSCRITOS INFECCIOSOS EN DISTINTOS HUÉSPEDES**
Ferriol, I., Rubio, L., Ambrós, S.

PANELES DE CONTROL

- PAN-184 MEJORA DE LA CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN Y EFICACIA EN EL CONTROL DEL FUEGO BACTERIANO EN *Pseudomonas fluorescens* EPS62e MEDIANTE ENRIQUECIMIENTO NUTRICIONAL Y OSMOADAPTACIÓN**
Bonaterra, A., Cabrefiga, J., Francés, J., Roselló, G., Montesinos, E.
- PAN-185 RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE MARCADORES MOLECULARES DE SÍNTESIS DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS Y LA ACTIVIDAD ANTAGONISTA CONTRA BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN *Bacillus* spp. ASOCIADOS A PLANTAS**
Cabrefiga, J., Mora, I., Montesinos, E.
- PAN-186 PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS ANTIBACTERIANOS EN ARROZ COMO BIOFACTORIA MEDIANTE EXPRESIÓN CONSTITUTIVA Y RETENCIÓN EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO**
Montero, M., Nadal, A., Pla, M., Badosa, E., Feliu, L., Planas, M., Messeguer J., Bardají, E., Montesinos, E.
- PAN-187 DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA PARA LA PROSPECCIÓN MASIVA DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS FITOPATÓGENAS**
Ventolà, A., Badosa, E., Cabrefiga, J., Ramos, C., Montesinos, E.
- PAN-188 PAPEL DE POLISACÁRIDOS DE LA ENVOLTURA CELULAR BACTERIANA EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN EL AGENTE DE BIOCONTROL *Agrobacterium rhizogenes* K84**
Abarca-Grau, A.M., E. Marco-Noales, E., López, M.M., y Peñalver, R.
- PAN-189 PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS SINTÉTICOS ACTIVOS CONTRA BACTERIAS FITOPATÓGENAS UTILIZANDO SEMILLAS DE ARROZ COMO BIOFACTORÍA**
Montesinos, L., Campo, S., San Segundo, B., Coca, M., Fontanet, P., Badosa, E., Güell, I., Feliu, L., Planas, M., Bardají, E., Montesinos, E.
- PAN-190 LOS POLISACÁRIDOS SUCCINOGLICANO Y β -1-2-GLUCANO CÍCLICO INTERVIENEN EN LA MOVILIDAD BACTERIANA Y EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN EL AGENTE DE BIOCONTROL *Agrobacterium rhizogenes* K84**
Abarca-Grau, A.M., Collado, J., Marco-Noales, E., López, M.M., Peñalver, R.
- PAN-191 AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE *Bacillus* spp. CON APTITUDES EN BIOCONTROL DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS**
Mora, I., Cabrefiga, J., Montesinos, E.
- PAN-192 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOFILMS DE ALGUNAS BACTERIAS FITOPATÓGENAS: AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE MÉTODOS DE CONTROL**
Redondo, C., Ferragud, E., Gell, I., Sena, M., Cubero, J.
- PAN-193 LA RIZOSFERA DE OLIVO SILVESTRE Y CULTIVADO EN ANDALUCÍA COMO FUENTE DE RIZOBACTERIAS CON POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO Y ANTAGONISTA CONTRA *Verticillium dahliae***
Aranda, S., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R.M., Landa, B.B.

- PAN-194 EVALUACIÓN DEL RIESGO DE INFECCIÓN DE MILDIU, OIDIO Y BOTRITIS EN VIÑEDOS DE RIOJA ALAVESA**
 Díez-Navajas, A.M., Ortiz-Barredo, A.
- PAN-195 EFECTO DE *Trichoderma harzianum* SOBRE EL DAMPING OFF CAUSADO POR *Fusarium circinatum* SOBRE PLÁNTULAS DE *Pinus radiata***
 Martínez-Álvarez, P., Alves-Santos, F. M., Díez, J.J.
- PAN-196 INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN CÁLCICA Y POTÁSICA EN LA SUSCEPTIBILIDAD DE LA ENCINA A *Phytophthora cinnamomi***
 Serrano, M.S., De Vita, P., Callier, P., Sánchez, M.E., Trapero, A., Fernández-Rebollo, P.
- PAN-197 CONTROL DE *Monilinia* spp. EN POSTCOSECHA DE FRUTA DE HUESO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE QUITOSANO Y ÁCIDO PERACÉTICO**
 Sisqueña, M., Elmer, P.A.G., Casals, C., Viñas, I., Usall, J.
- PAN-198 BIOFUMIGACIÓN CON *Sinapis alba* PARA EL CONTROL DE *Phytophthora capsici* EN INVERNADEROS DEL PAÍS VASCO**
 Núñez-Zofío, M., Pérez, E., Juaristi, B., Garbisu, C., Larregla, S.
- PAN-199 BIOCONTROL DE LA VERTICILOSIS DEL PIMIENTO CON DOS PRODUCTOS COMERCIALES BACTERIANOS Y UN AGENTE FÚNGICO: UN ESTUDIO COMPARATIVO**
 Carballeira, R., Veloso, J., Díaz, J.
- PAN-200 TRATAMIENTO DE PLANTONES DE OLIVO CON *Trichoderma* spp. PARA EL CONTROL DE INFECCIONES POR EL PATOTIPO DEFOLIANTE DE *Verticillium dahliae***
 Jiménez-Díaz, R.M., Trapero-Casas, J.L., Boned, J., Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A.
- PAN-201 MICOFLORA FÚNGICA ENDOFÍTICA ASOCIADA A *Vitis vinifera* EN EL CENTRO PENINSULAR**
 González, V., Tello, M. L.
- PAN-202 EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE FUNGICIDAS EN UNA VARIEDAD LOCAL DE GARBANZO (*Cicer arietinum* L.) EN LEÓN**
 Valenciano, J.B., Boto, J.A., Marcelo, V., Reinoso, B.
- PAN-203 EVALUACIÓN *IN VITRO* DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE *Fusarium circinatum***
 Ramón-Albalat, A., Berbegal, M., Pérez-Sierra, A., García-Jiménez, J., Armengol, J.
- PAN-204 EVALUACIÓN *IN VITRO* DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE *Fusicladium eriobotryae*.**
 Rodríguez-Reina, J. M., Berbegal, M., Armengol, J., García-Jiménez, J.
- PAN-205 TRATAMIENTOS POR TERMOTERAPIA CON AGUA CALIENTE PARA EL CONTROL DE *Fusarium circinatum* EN SEMILLAS DE *Pinus Radiata***
 Agustí-Brisach, C., Pérez-Sierra, A., Berbegal, M., Aguado-Ortega, A., Iglesias-Sauce, S., Armengol, J., García-Jiménez, J.
- PAN-206 EFICACIA DE ENMIENDAS ORGÁNICAS, TEMPERATURA DEL SUELO Y CULTIVARES EN EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE RAÍCES Y CUELLO DE ESPÁRRAGO**
 Borrego-Benjumea, A., Basallote-Ureba, M.J., Melero-Vara, J. M.

- PAN-207 CONTROL INTEGRADO DE LA MARCHITEZ VASCULAR (*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*) EN CLAVEL**
Nava, R. A., Melero-Vara, J. M.
- PAN-208 CONTROL DEL OIDIO (*Podosphaera aphanis*) DEL FRESÓN (*Fragaria x ananassa* D.) EN CAMPOS DE HUELVA MEDIANTE EL USO DE DE BIOPESTICIDAS Y BIOFERTILIZANTES**
Ortega, J., de los Santos, B., Romero, F.
- PAN-209 CONTROL DE LA PODREDUMBRE GRIS (*Botrytis cinerea*) DEL FRESÓN (*Fragaria x ananassa* D.) EN CAMPOS DE HUELVA MEDIANTE EL USO DE DE BIOPESTICIDAS Y BIOFERTILIZANTES**
Ortega, J., de los Santos, B., Romero, F.
- PAN-210 RESISTENCIA A FUNGICIDAS EN *Podosphaera fusca* EN EL SUR DE ESPAÑA**
Bellón, D., Sánchez-Pulido, J. M., Jousseume, C., Pérez-García, A., Torés, J.A.
- PAN-211 ESTUDIO DE LA MICROFLORA ASOCIADA A PLANTACIONES DE *Pinus radiata* AFECTADAS POR LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO RESINOSO DEL PINO (*Fusarium circinatum*)**
Martínez-Álvarez, P., Blanco, J., De Vallejo, M., Alves-Santos, F. M., Diez, J.J.
- PAN-212 PRODUCTOS NATURALES PARA EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE CORONA DEL PLÁTANO EN CANARIAS**
Dorta, E., Lobo, G.M., Hernández, J.M.
- PAN-213 EFECTO *IN VITRO* DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS, EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITES ESENCIALES SOBRE *Verticillium dahliae***
Adem, M., Roca, L.F., López-Escudero, F.J., Trapero, A.
- PAN-214 EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITES ESENCIALES CONTRA EL REPILO DEL OLIVO CAUSADO POR *Fusicladium oleagineum***
Roca, L.F., Horchani, H., Luna, D., Trapero, A.
- PAN-215 EFECTO DE LA BIOFUMIGACIÓN CON ESPECIES DE *Brassica* Y TEMPERATURAS DIARIAS FLUCTUANTES EN LA INACTIVACIÓN DE CLAMIDOSPORAS DE *Phytophthora parasitica***
Rodríguez-Molina, M.C., Picón-Toro, J., Morales-Rodríguez, M.C., Palo Osorio, C., Palo Núñez, E.J., Lacasa, A.
- PAN-216 EFECTO *IN VITRO* DEL CALCIO Y EL POTASIO EN LA PRODUCCIÓN DE ESPORANGIOS DE *Phytophthora cinnamomi***
Serrano, M.S., De Vita, P., Fernández-Rebollo, P., Trapero, A., Sánchez, M.E.
- PAN-217 EFICACIA DE FUNGICIDAS EN APLICACION AL SUELO PARA EL CONTROL DE *Phaeoemoniella chlamydospora***
Tello, M. L., González, V.
- PAN-218 EVALUACIÓN DE AGENTES DE BIOCONTROL E INDUCTORES DE RESISTENCIA PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN TOMATE**
Rodríguez Pérez, A., Acosta Pérez, A.J., De León Guerra, L., Domínguez Correa, P., Gallo Llobet, L.

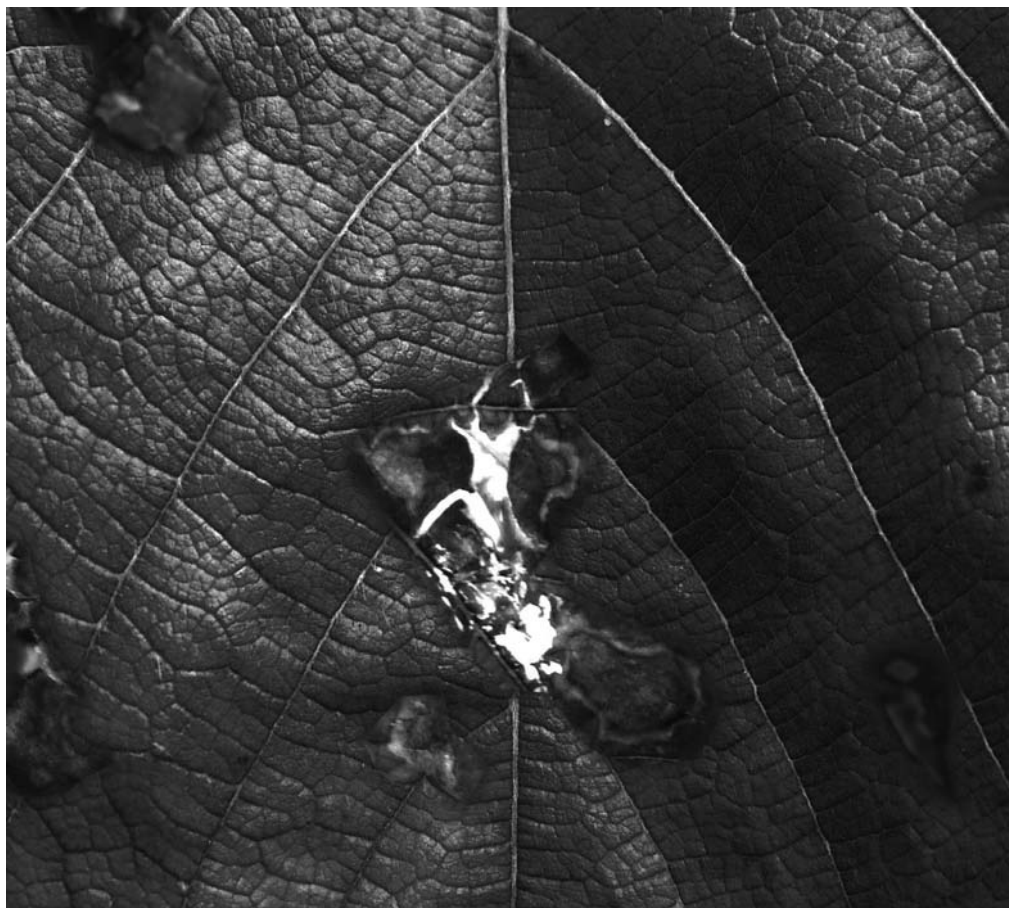
- PAN-219 ANTAGONISMO *IN VITRO* DE LA CEPA T-22 DE *Trichoderma harzianum* Rifai SOBRE ALGUNOS HONGOS PATÓGENOS DE FRUTALES**
Galeano, M., Belda, J.E.
- PAN-220 EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN ACTINOMICETO CELULOLÍTICO EN EL CONTROL DE LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL TOMATE EN SUSTRATOS HORTÍCOLAS CONDUCTIVOS Y SUPRESIVOS**
Castaño, R., Rojo, J., Borrero, C., Avilés, M.
- PAN-221 CONTROL BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* Y *Sclerotium rolfsii* EN CÉSPED**
Borrero, C., Reis, M., Guerrero, C., Dionisio, L., Torres, V., Bandarra, V., Castaño, R., Castillo, S., Trillas, M.I., Avilés, M.
- PAN-222 CONTROL DE *Sclerotinia sclerotiorum* EN LECHUGA POR *Trichoderma asperellum* (T34 BIOCONTROL®)**
Borrero, C., Castillo, S., Bejarano, I., Casanova, E., Segarra, G., Trillas, M.I., Avilés, M.
- PAN-223 RESPUESTA DE LA COMUNIDAD MICROBIANA DE UN SUELO A LA ENMIENDA CON SUSTRATOS HORTÍCOLAS USADOS Y TRATADOS O NO CON *Trichoderma asperellum* (T34) DURANTE SU UTILIZACIÓN**
Avilés, M., Castillo, M.L., Castillo, S., Borrero, C., Casanova, E., Segarra, G., Trillas, M.I., Ordovás, J.
- PAN-224 IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES DE LA MATERIA ORGÁNICA POR SP-MAS 13C NMR RELACIONADA CON DIFERENTES NIVELES DE SUPRESIVIDAD A LA FUSARIOSIS VASCULAR EN TRES MEDIOS DE CRECIMIENTO VEGETAL**
Castaño, R., Borrero, C., Avilés, M.
- PAN-225 CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES AFECTADOS EN MOTILIDAD, PRODUCCIÓN DE SIDERÓFOROS Y ANTAGONISMO *IN VITRO* DEL AGENTE DE BIOCONTROL DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO *Pseudomonas fluorescens* PICF7**
Maldonado-González, M.M., Schiliro' E., Mercado-Blanco, J.
- PAN-226 *Penicillium digitatum*, AGENTE CAUSAL DEL MOHO VERDE Y SU CONTROL QUÍMICO EN FRUTOS DE LIMA MEXICANA Y LIMA PERSA**
Orozco-Santos, M., Carrillo-Medrano, S.H., Manzo-Sánchez, G., Vázquez-Jiménez, J.L., García-Mariscal, K., Velázquez-Monreal, J.L., Robles-González, M.
- PAN-227 SUPERVIVENCIA DE *Phytophthora* A LA BIOSOLARIZACIÓN EN DISTINTAS FECHAS EN INVERNADEROS DE PIMIENTO DE LA REGIÓN DE MURCIA**
Núñez-Zofío, M., Guerrero, M.M., Larregla, S., Lacasa, C.M., Martínez, V., Ros, C., Martínez, M.A., Lacasa, A.
- PAN-228 RESISTENCIA DE *Monilinia spp.* A FUNGICIDAS EN HUERTOS DE MELOCOTONERO DEL VALLE DEL EBRO**
Egüen, B., Melgarejo, P., De Cal, A.
- PAN-229 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRACTOS DE LA GAMA PROACTIF® FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS**
Muñoz, R. M., Lerma, M. L., Castillo, P., Sánchez, V.

- PAN-230 EMPLEO DEL MODELO DE MILLS Y LAPLANTE PARA MEJORAR LA EFICACIA DE LA PRÁCTICA FITOSANITARIA EN MOTEADO DE MANZANO EN LA RIOJA**
Gallo, S., Baroja, E., Rubio, S.
- PAN-231 CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES DIRIGIDOS EN EL OPERÓN *DAR* DE LA CEPA DE BIOCONTROL *Pseudomonas fluorescens PCL1606***
Calderon, C.E., Bonilla, N., Pliego, C., de Vicente, A., Cazorla, F.M.
- PAN-232 ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE SELECCIONES DE FRESA A SUS PRINCIPALES HONGOS PATÓGENOS EN VIVERO**
Redondo, C., Martínez-Treceño, A., Melgarejo, P., De Cal, A.
- PAN-233 ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL MELOCOTÓN A LA PODREDUMBRE PARDA CAUSADA POR *Monilinia laxa***
Villarino, M., Sandín-España, P., Melgarejo, P., De Cal, A.
- PAN-234 COMUNIDADES FÚNGICAS ASOCIADAS AL CHANCRO RESINOSO DE *Pinus radiata* CAUSADO POR *Fusarium circinatum* EN EL NORTE DE ESPAÑA: ASOCIACIÓN CON INSECTOS E INTERACCIONES PATÓGENO-SAPRÓFITOS**
Romón, P.¹; Troya, M.²; Fernández de Gamarra, M.E.²; Eguzkitza, A.²; Iturrondobeitia, J.C.²; Goldarazena, A.¹
- PAN-235 EFECTO *IN VITRO* DE LA COMBINACIÓN ANTAGONISTA/FUNGICIDA SOBRE AISLADOS DE *Rosellinia necatrix***
Osorio-Hernández, E., Ruano-Rosa, D., Hernández-Castillo, F. D., López-Herrera, C. J.
- PAN-236 CONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AGUACATE MEDIANTE EL USO COMBINADO DE *Trichoderma* spp. Y FLUAZINAM**
Ruano-Rosa, D., Osorio-Hernández, E., Hernández-Castillo, F. D., López-Herrera, C. J.
- PAN-237 EFECTO DEL FORMULADO COMERCIAL MYCOSYM TRITON® SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE AGUACATE Y EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA DE RAÍCES**
Ruano-Rosa, D., Jordán-Ramírez, R., López-Herrera, C. J.
- PAN-238 MANEJO INTEGRADO DEL SUELO PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS EN INVERNADEROS DE PIMIENTO**
Lacasa, C.M., Guerrero, M.M., Martínez, V., Ros, C., Martínez, M.A., Beltrán, C., Lacasa, A.
- PAN-239 EFECTIVIDAD *IN VITRO* DE UN NUEVO BIO-FUNGICIDA BASADO EN ESPORAS DE *Streptomyces lydicus* WYEC 108.**
Sarro, A., Lara, J.M., Fernández, C.
- PAN-240 DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA RESISTENCIA A BENZIMIDAZOLES EN *Podosphaera fusca*, AGENTE CAUSAL DEL OÍDIO DE LAS CUCURBITÁCEAS**
Vela, D., de Vicente, A., Torés, J.A., Pérez-García, A.
- PAN-241 CULTIVO AUTOTRÓFICO *IN VITRO* DE PORTAINJERTOS DE FRUTAL PARA EVALUAR SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A *Rosellinia necatrix* Y RESPUESTA A LA MICORRIZACIÓN**
Nogales, A., García-Figueroes, F., Camprubí, A., Estaún, V., Calvet, C.

- PAN-242 SISTEMAS ECOLÓGICOS DE DESINFECCIÓN DE MADERA Y SU APLICACIÓN EN EL CASO DE *Fusarium circinatum* Y DIPLODIA PINEA**
Quintana, E., Mesanza, N., Iturrutxa, E.
- PAN-243 MOVILIDAD Y PERSISTENCIA DEL AGENTE DE BIOCONTROL *Penicillium oxalicum* EN CULTIVOS DE TOMATE EN CAMPO E INVERNADERO**
Vázquez, G., De Cal, A., Melgarejo, P., Larena, I.
- PAN-244 ANALISIS DEL RIESGO DE APLICACIÓN DEL AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO *Penicillium oxalicum* EN SUELO**
Vázquez, G., Melgarejo, P., Mallorquí, M., Martínez-Alonso, M., Gaju, N., Larena, I.
- PAN-245 EFICACIA DE INÓCULOS HIPOVIRULENTOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Cryphonectria parasitica* EN CASTAÑOS DE GALICIA**
Aguín, O., Montenegro, D., Sainz M.J., Mansilla, J.P.
- PAN-246 ENSAYO DE FUNGICIDAS *in vitro* PARA EL CONTROL DE *Phytophthora alni***
Mansilla, J.P., Rial, C., Pintos, C.
- PAN-247 EFECTO DE LA INOCULACIÓN FOLIAR DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL EN REMOLACHA AZUCARERA**
Sacristán, G., Reguera, J.I., López-Robles, D. J., Olalla, C., García-Villaraco, A., Gutiérrezz-Mañero, F. J.
- PAN-248 ACTIVIDAD ESPORICIDA DE UNDECAPÉPTIDOS SINTÉTICOS Y CONTROL DE LA PODREDUMBRE AZUL CAUSADA POR *Penicillium expansum* EN MANZANA**
Francés, J., Badosa, E., Ferré, R., Bardají, E., Feliu, L. , Planas, M., Montesinos, E.
- PAN-249 ESTUDIO DE LA COMPATIBILIDAD DE *Paecilomyces lilacinus* CON NEMATODOS ENTOMOPATOGENOS (Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae)**
Abelleira, A., Picoaga, A., Mansilla, J.P.
- PAN-250 APLICACIÓN DE PURÍN DESHIDRATADO PARA EL CONTROL DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS EN UN AGROECOSISTEMA**
Olalla, C., López Robles D.J., Fernández Peña M., González Carcedo S., Sacristán, G., Reguera, J.I.
- PAN-251 MECANISMOS DE ACCIÓN Y DETERMINANTES BACTERIANOS IMPLICADOS EN LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE *Bacillus subtilis* FRENTE A ENFERMEDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS DE CUCURBITÁCEAS**
Zerriouh, H., Romero, D., García-Gutiérrez, L., de Vicente, A., Pérez-García, A.
- PAN-252 REDUCCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ARTRÓPODOS VISITANTES Y DE VECTORES VIRALES MEDIANTE ESTRATEGIAS BASADAS EN EL USO DE PINTURA INSECTICIDA INESFLY® IGR Fito**
Corrales, A.R., Vidal, E., Gorris, M.T., Bertolini, E., López, J., Moreno, A., Cambra, M.

- PAN-253 PROPUESTA DE UN NUEVO ESQUEMA DE CERTIFICACIÓN SANITARIA DE PATRONES Y VARIEDADES DE VID QUE INCLUYE ANÁLISIS POR PCR A TIEMPO REAL**
Olmos, A., Cambra, M., Bertolini, E.
- PAN-254 PRODUCCIÓN DE MATERIAL VEGETAL DE VID LIBRE DE VIRUS BASADO EN PCR A TIEMPO REAL Y CULTIVO DE ÁPICES CAULINARES IN VITRO**
Olmos, A., Juárez, J., García, J., Bertolini, E., Giménez, J., Martínez, A., Yuste, A., Navarro, L.
- PAN-255 IMPACTO DE MALLAS FOTOSELECTIVAS EN LA DISPERSIÓN SECUNDARIA DE TYLCV EN CULTIVO DE TOMATE**
Legarrea, S., Fraile, A., García-Arenal, F., Plaza, M., Mora, M.A., Ferreres, A.
- PAN-256 INFLUENCIA DEL PORTAINJERTOS EN EL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE MOSTOS DE *Vitis vinifera* cv MENCIA INFECTADA CON *GLRaV-3***
Pesqueira, A.M., González- Rodríguez, R., Cabaleiro, C.
- PAN-257 ESTUDIO *in vivo* DE LOS MECANISMOS DE SUPRESIÓN DE LA INFECTIVIDAD DE UN VIRUS DE PLANTAS DEBIDO A MUTAGÉNESIS INCREMENTADA**
Domínguez-Huerta, G., Navas-Castillo, J., Grande-Pérez, A.
- PAN-258 EFECTO DEL USO DE LA RESISTENCIA A *Bemisia tabaci* EN LA DISPERSIÓN DEL CRINIVIRUS *Tomato chlorosis virus* (TOCV) EN TOMATE**
Martín-Rodríguez, P., Navas-Castillo, J., Fernández-Muñoz, R., Moriones, E.
- PAN-259 DETERMINACIÓN DE PÉRDIDAS EN RENDIMIENTO Y RESPUESTA DE VARIEDADES COMERCIALES DE FRIJOL AL AMACHAMIENTO (*Aphelenchoides besseyi*)**
Araya, C. M¹., Chaves, N².
- PAN-260 IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DEL AMACHAMIENTO DEL FRIJOL EN COSTA RICA**
Chaves, N¹., Araya, C. M²., Cervantes, E³.

**RESÚMENES DE
PONENCIAS INVITADAS**



PONENCIAS INVITADAS

THIERRY CANDRESSE

INRA Bordeaux-Aquitaine, France

CHRIS GILLIGAN

University of Cambridge, United Kingdom

BART FRAAIJE

Rothamsted Research, United Kingdom

GEORGE SUNDIN

Michigan State University, U.S.A.

PI-1

**DIVERSIDAD Y VARIABILIDAD DE LOS VIRUS VEGETALES Y SUS
CONSECUENCIAS SOBRE NUESTRA CAPACIDAD PARA IDENTIFICAR,
DETECTAR Y CONTROLAR ESTOS AGENTES FITOPATÓGENOS**

Candresse, T.

UMR GDPP, IBVM, INRA, 78 Av. E. Bourleaux, BP81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France. E-mail: tc@bordeaux.inra.fr

Entre los agentes fitopatógenos, los virus vegetales se caracterizan por su diversidad de organización genómica y, al mismo tiempo, por su altísima variabilidad genética, consecuencia de un proceso de replicación propenso a errores. Estos altos niveles de diversidad y variabilidad se reflejan en la original estructura y los criterios de la taxonomía viral, la cual, por ejemplo, reconoce niveles de variación intraespecíficos del 10 al 30% en la secuencia nucleotídica, según los géneros.

La diversidad de los virus como grupo tiene consecuencias directas sobre nuestra habilidad para identificarlos sin asunciones apriorísticas, un elemento clave en etiología y, a mayor escala, en estudios meta- o ecogenómicos. De hecho, y al contrario que otros agentes fitopatógenos, no se dispone hasta la fecha de una «firma» vírica general, que pudiera servir para diseñar métodos de detección de amplio espectro, similares a los análisis de secuencias de RNA 16S o de ITSs para bacterias y hongos, respectivamente. La mayoría de los métodos polivalentes de detección para virus vegetales se limitan normalmente al nivel del género, pero los recientes avances en las tecnologías de secuenciación de alta capacidad pueden cambiar esta situación y poner a nuestra disposición, por primera vez, la capacidad de identificar simultáneamente todos los virus presentes en una planta.

El estudio de la variabilidad viral y de la manera en que está estructurada por nivel, espacio y tiempo ha sido el centro de atención de muchos laboratorios. Dependiendo del virus de que se trate, se pueden observar diferentes niveles de variabilidad, que a veces permiten la identificación de cepas bien definidas, con propiedades serológicas, moleculares, biológicas o epidemiológicas características; pero que, simultáneamente, plantean cuestiones sobre las bases moleculares de estas mismas características. Al mismo tiempo, los altísimos niveles de variabilidad observados en algunos virus frecuentemente han impedido la puesta a punto de métodos de diagnóstico serológicos o moleculares o han torpedeado los esfuerzos de los mejoradores para desarrollar y desplegar plantas con resistencia duradera. Esta variedad de puntos será ilustrada con ejemplos extraídos del caso del *Plum pox virus*, el agente de la sharka de los frutales de hueso y de algunos otros virus fitopatógenos.

PI-2

**MODELOS DE INVASIÓN Y PERSISTENCIA DE PATÓGENOS
VEGETALES: EL MANEJO DE LAS ENFERMEDADES EN EL PAISAJE**

Gilligan, C. A.

Epidemiology and Modelling Group, Department of Plant Sciences, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge, CB2 3EA, UK: email *cag1@cam.ac.uk*

La agricultura está cambiando rápidamente y, con ella, el paisaje a través del cual se dispersan las enfermedades. Esto impone nuevas demandas a nuestra comprensión de la epidemiología, si queremos controlar las enfermedades con eficacia, sea por medios genéticos, químicos, biológicos o culturales. El tipo de cuestiones que deben ser afrontadas se centran en el descubrimiento de los factores que influyen sobre la invasión y persistencia de nuevas cepas patógenas, cómo y por qué desplazan a los patógenos preexistentes y cómo desplegar métodos duraderos de control. Esto también requiere comprender qué controla la variabilidad de las epidemias entre una localidad y otra y de una campaña a otra, y cómo esto influye en las pérdidas de cosecha locales, nacionales y, a veces, internacionales. Presentaré un marco epidemiológico que puede ser usado para entender la invasión, persistencia, variabilidad y escala en las epidemias y cómo utilizar esta perspectiva para optimizar el control de la enfermedad. A través de experiencias recientes con modelos para orientar el control de enfermedades vegetales tales como la rizomanía de la remolacha, el chancro y la virescencia de los cítricos, así como la muerte súbita de las encinas en vegetación natural, ilustraré algunas aproximaciones a los modelos de manejo de la enfermedad en el paisaje. Se enfatizará la intuición biológica y las perspectivas que se obtienen a partir de la modelización, por ejemplo, la importancia de acompañar las escalas espacial y temporal del control con las escalas naturales de la epidemia, más que la inmersión en el detalle matemático. Se presentarán algunos ejemplos sobre el uso de modelos para predecir los riesgos de expansión de la enfermedad y para orientar y equilibrar el gasto de recursos limitados entre la detección y el control, y para seleccionar estrategias óptimas para el control de las enfermedades. Finalmente, se hará una breve introducción sobre la importancia de congeniar la epidemiología, primero, con las limitaciones económicas y, segundo, con la teoría evolutiva, con el fin de estudiar los efectos de las estrategias de control sobre la sostenibilidad del mismo y las tendencias poblacionales de los patógenos a largo plazo.

PI-6

EL USO DE MUESTRAS HISTÓRICAS DE COSECHA PARA ESTUDIAR LA ADAPTACIÓN DE LOS PATÓGENOS VEGETALES A LA PRÁCTICA AGRONÓMICA Y AL CAMBIO CLIMÁTICO

Fraaije, B.A., Fernández-Ortuño, D., Lucas, J.A.

Centre for Sustainable Pest and Disease Management, Rothamsted Research, Harpenden, AL5 2JQ, Hertfordshire, United Kingdom. E-mail: bart.fraaije@bbsrc.ac.uk

Entre 1843 y 1856 Lawes y Gilbert pusieron en marcha nueve experiencias de campo de larga duración en Rothamsted. Su principal objetivo era examinar los efectos de los fertilizantes inorgánicos y el abonado orgánico sobre la nutrición y rendimiento de un cierto número de cultivos importantes. De cada experimento, se han ido almacenando anualmente muestras de cosecha y suelo, y sucesivas generaciones de científicos han incrementado este archivo que ahora es un valioso recurso de más de 300.000 muestras completamente documentadas. El Archivo de Rothamsted puede ser utilizado por científicos de todo el mundo para entender cómo los cambios en la práctica agronómica y los insumos externos afectan la fertilidad del suelo, la capacidad de producir alimentos completos y al medio ambiente en su conjunto. La aplicación de técnicas basadas en el ADN proporciona hoy en día una oportunidad única para explorar la variación y adaptación de los patógenos a lo largo de muchas generaciones, en respuesta prácticas agronómicas, así como a cambios en el ambiente de cultivo, tales como las propiedades del suelo, la contaminación y el calentamiento global. Tuvimos la oportunidad de construir una serie temporal única de 160 años sobre la abundancia de *Phaeosphaeria nodorum* y *Mycosphaerella graminicola* en muestras de grano y tallo/hoja del experimento de trigo de invierno continuo de Broadwalk, mediante cuantificación por PCR en tiempo real. Los cambios en la proporción de los dos patógenos no estuvieron correlacionados con cambios climáticos o agronómicos, sino, inesperadamente, con la deposición de azufre. Las muestras del archivo se han usado ahora para reconstruir las dinámicas a largo plazo de los patógenos *Rhynchosporium secalis*, *Ramularia collo-cygni* y *Fusarium* spp. Estudios adicionales sobre la detección y cuantificación de alelos que confieren resistencia a fungicidas [(por ejemplo, genes de beta-tubulina, citocromo *b* y esterol 14 α -demetilasa (CYP51)] han mostrado el potencial de las muestras archivadas para estudiar la evolución de genes individuales en poblaciones de patógenos.

PI-7

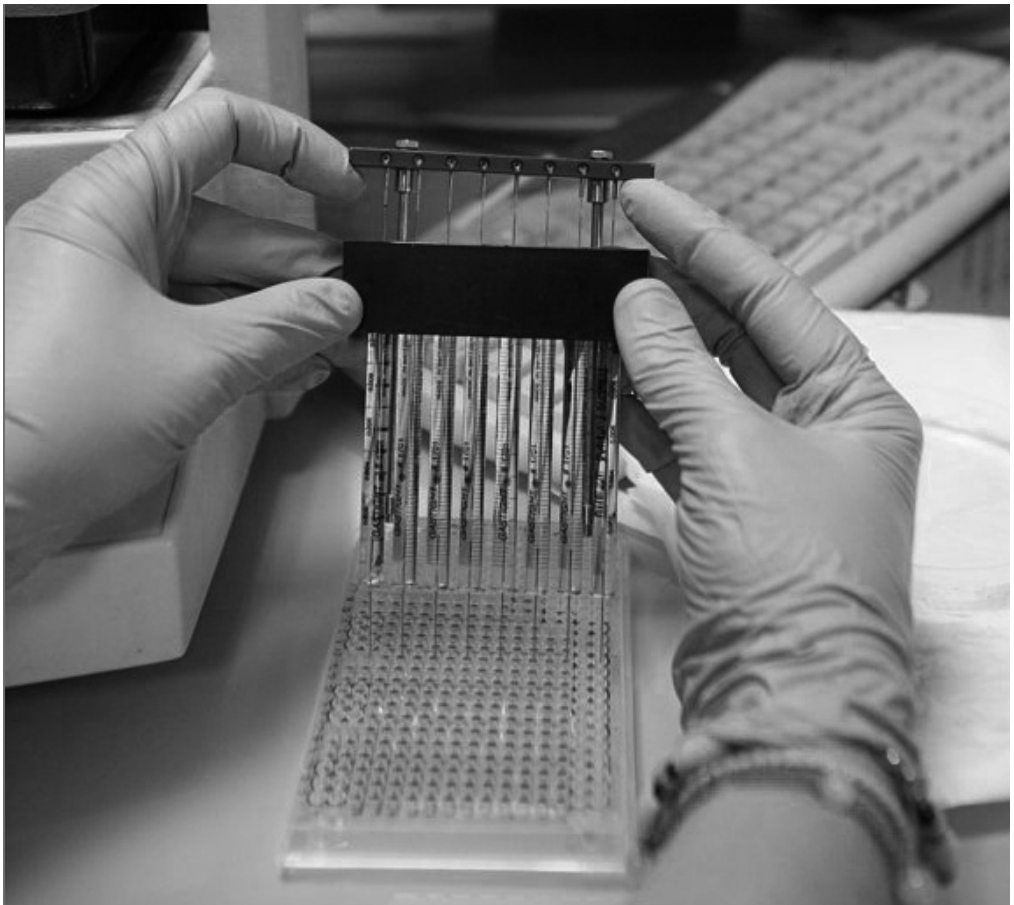
**LOS BIOFILMS DE *Erwinia amylovora* Y EL FUEGO BACTERIANO:
DE LA INVESTIGACIÓN BÁSICA A SU APLICACIÓN
EN EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD EN CAMPO**

Sundin, G. W.

Michigan State University, Department of Plant Pathology, East Lansing, MI 48824 USA. E-mail: sundin@msu.edu

La bacteria fitopatógena gram negativa *Erwinia amylovora* es el agente causal del fuego bacteriano, una enfermedad devastadora de especies de rosáceas como el manzano y el peral. Este patógeno es muy virulento y se mueve con rapidez en la planta infectada y entre árboles de una plantación, lo que da lugar a pérdidas significativas cuando las condiciones ambientales son favorables a la infección. El control efectivo del fuego bacteriano en manzano está limitado por la aparición de resistencias a antibióticos en el patógeno y por la falta de resistencia en el huésped. Para el futuro control sostenible del fuego bacteriano se requiere el desarrollo de métodos dirigidos a contrarrestar los mecanismos de virulencia del patógeno. El exopolisacárido amilovorano es un determinante de patogenicidad requerido para la infección y también para la formación de biofilm. Hemos caracterizado la arquitectura del biofilm producido por *E. amylovora*, tanto *in vitro* como *in planta* en el xilema de manzano, mediante ensayos en placa, con células de flujo y microscopía confocal y de barrido. A continuación, hemos abordado un estudio genético para construir mutantes que sintetizan amilovorano pero que son deficientes en la producción de biofilm para diseccionar el papel de éste en la colonización del xilema y en el movimiento sistémico del patógeno en el manzano. Las mutaciones en los genes del estátor flagelar *motAB*, que se requieren para la movilidad tipo “swarming”, y en los genes de fimbrias, esenciales para adhesión, afectan a los pasos iniciales de la formación de biofilm. Estos mutantes presentan una reducción en la virulencia y en la capacidad de producir biofilm; además, estos análisis indican que la producción de biofilm es esencial para la entrada efectiva en el xilema y el consecuente movimiento en el huésped. También hemos estudiado el papel del segundo mensajero diguanilato cíclico (c-di-GMP) en la inducción de la producción de biofilm y en la patogénesis. *E. amylovora* codifica cinco proteínas GGDEF implicadas en la síntesis de c-di-GMP; las mutaciones en los genes de dos de estas proteínas dan lugar a una disminución de la cantidad de biofilm y de la virulencia. Hemos puesto de manifiesto, mediante ensayos *in vitro*, que los inhibidores químicos de la síntesis de c-di-GMP y de la producción de biofilm son efectivos contra *E. amylovora*. La futura utilización de estos compuestos para el control del fuego bacteriano requiere de la investigación sobre métodos efectivos de aplicación de estos inhibidores en manzano.

RESÚMENES DEL SIMPOSIO DE GENÓMICA



SG-3

**LA PROTEÍNA EFECTORA SAP11 DE FITOPLASMAS
MEJORA LA ADAPTACIÓN AL INSECTO VECTOR**

Sugio, A., Kingdom, H. N., Nicholls, V. M., Hogenhout, S. A.

The John Innes Centre, Colney Lane, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, UK. Email: saskia.hogenhout@bbsrc.ac.uk

Los fitoplasmas inducen cambios morfológicos en sus plantas huésped y modifican las interacciones planta-insecto. Hemos estudiado la transmisión de la cepa AY-WB, del grupo del fitoplasma Aster yellows witches'-broom, por el cicadélido del áster *Macrostelus quadrilineatus*, lo que ha mostrado que la infección del insecto, de la planta, o de ambos huéspedes por AY-WB incrementa en un 60-70% la fecundidad de *M. quadrilineatus*. Además, el cicadélido específico de maíz *Dalbulus maidis* sobrevive y produce ninfas en plantas de *Arabidopsis thaliana* infectadas con AY-WB, pero muere en plantas de esta especie sanas. Con el fin de identificar proteínas responsables de estos cambios en las interacciones con insectos, hemos buscado genes que codifican proteínas secretadas en la secuencia completa del genoma de la cepa AY-WB. Estas proteínas son posibles factores de virulencia (efectores) que pueden manipular los huéspedes, ya sea planta o insecto. Hemos identificado 56 proteínas secretadas por AY-WB (secreted AY-WB proteins, SAPs), de las cuales una, el posible efector SAP11, porta una señal de localización celular y se acumula en núcleos de células vegetales (Bai et al., 2009. MPMI, 22, 18-30). Hemos mostrado que las líneas 35S:SAP11 de *Arabidopsis* producen más tallos y desarrollan hojas con síntomas graves de arrepollado. Además, la fecundidad de *M. quadrilineatus* se incrementa un 25% de media en líneas 35S:SAP11 de *Arabidopsis* en comparación con la línea silvestre Col-0. También hemos mostrado que SAP11 interacciona con factores de transcripción de *Arabidopsis* implicados en el desarrollo vegetal y que conduce a una menor expresión de los genes requeridos para la respuesta de defensa de *Arabidopsis* frente *M. quadrilineatus*. Por tanto, la función del efector SAP11 trasciende la interacción fitoplasma-planta, ya que estimula la generación de más insectos vectores que posteriormente podrán diseminar el fitoplasma a otras plantas huésped.

SG-4

**HERRAMIENTAS GENÓMICAS EN EL ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN
PLANTA-BACTERIA**

Rodríguez-Palenzuela, P.^{1,2}, López-Solanilla, E.^{1,2}

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas UPM-INIA. Autovía M40 Km 38. 28223 Pozuelo de Alarcón, Madrid.

² Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos; Universidad Politécnica de Madrid. Av. Complutense s/n 28040. Madrid. E-mail: *pablo.rpalenzuela@upm.es*

En Biología, los avances tecnológicos y los conceptuales siempre han ido de la mano. En los años setenta del siglo XX, el desarrollo de la Ingeniería Genética permitió la identificación y descripción molecular de muchos genes implicados en la interacción planta-bacteria. En los años noventa, la posibilidad de secuenciar genomas completos, así como la hibridación de microarrays, permitieron un abordaje global al estudio de las bacterias asociadas a plantas. Tras la primera década del siglo XXI, la «revolución» Genómica ha dado otra vuelta de tuerca al proveer al investigador con herramientas nuevas relacionados con la secuenciación de DNA. El propósito de esta charla será examinar brevemente cómo estas nuevas herramientas están permitiendo nuevos abordajes a viejas preguntas dentro del campo de la Patología Vegetal. La mayor ventaja de las nuevas técnicas de secuenciación radica precisamente en su bajo coste económico, que en algunos casos puede ser alrededor de 2000 \$. Esto hace impensable iniciar un proyecto de investigación sin tener previamente su genoma secuenciado, dadas las enormes ventajas que ello supone.

Otro ejemplo de la «transición post-genómica» es el hecho de que los microarrays están siendo sustituidos por la secuenciación masiva del transcriptoma de la bacteria, lo que permite abordar estos estudios en especies no secuenciadas. Asimismo, el uso de «códigos de barras» en la pirosecuenciación de amplicones («Barcoding») ha abierto una ventana para el estudio de comunidades microbianas en la filosfera, rizosfera o incluso en el interior de la planta. Finalmente, el desarrollo de la genómica de poblaciones bacterianas y la metagenómica prometen extender los límites de nuestro conocimiento.

La aplicación de estas nuevas herramientas genómicas y bioinformáticas constituye un reto y a la vez una gran oportunidad para los científicos interesados en el estudio de la interacción bacteria-planta.

SG-5

PIROSECUENCIACIÓN MASIVA Y APLICACIONES EN FITOPATOLOGÍA

Álvarez-Tejado, M.

Roche Diagnostics SL . Roche Applied Science. Av. de la Generalitat, 171-173. E-08174 Sant Cugat del Vallès. España. Email: *miguel.alvarez-tejado@roche.com*

En 2005 las tecnologías de secuenciación masiva de DNA dieron su primer paso a la aplicación real en la comunidad científica. Este primer avance lo dio la empresa de biotecnología 454 Life Sciences (Branford, CT USA). Desde entonces la tecnología de esta compañía, ahora propiedad de Roche, ha conseguido enormes avances tecnológicos, y ha permitido la realización de proyectos que antes eran económica o técnicamente inviables.

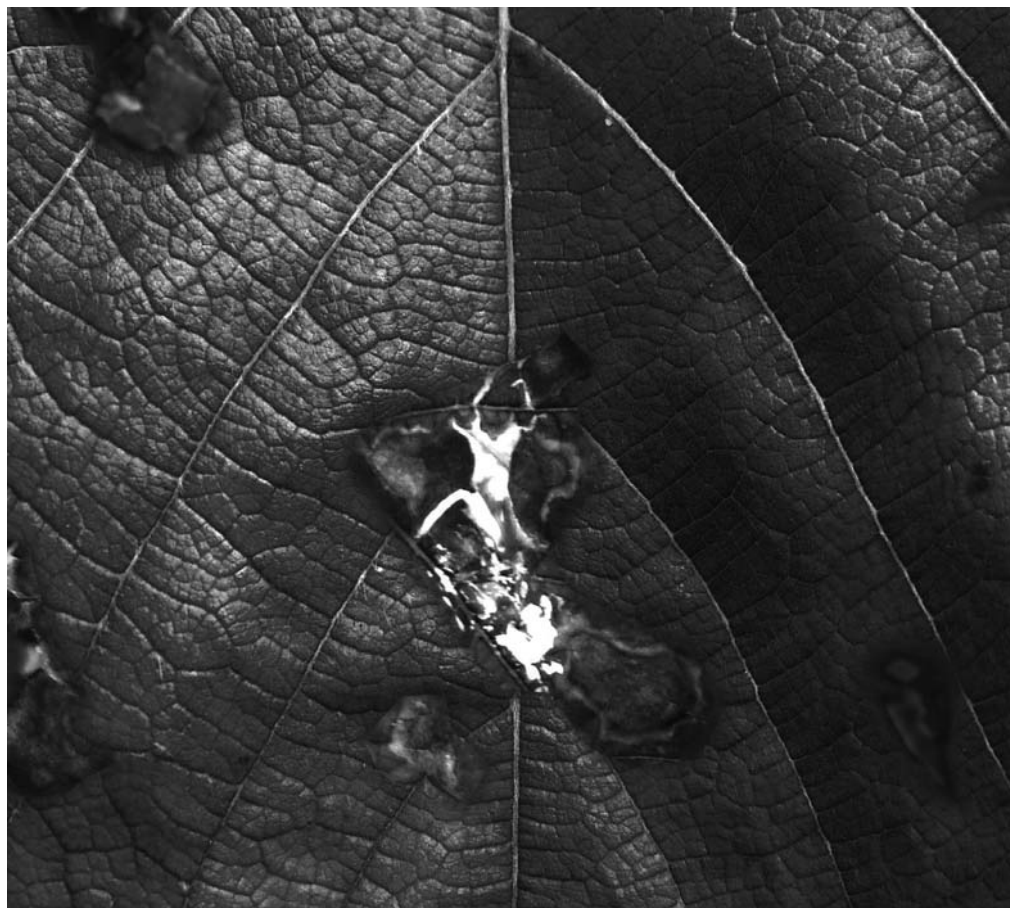
Esta tecnología, denominada *454 sequencing*, está en su tercera generación de desarrollo químico y es capaz de producir un millón de secuencias, de 400 pares de bases de media, con una exactitud Q20 en la base 400 y superior en las anteriores. El tiempo para producir estas secuencias es de 10 horas.

Con esta capacidad de secuenciación, se posibilita el desarrollo de proyectos genómicos de gran complejidad, como pueden ser la secuenciación de genomas de cualquier organismo, la secuenciación de transcriptomas, y de prácticamente cualquier tipo de muestra de DNA. Un ejemplo de la potencia de esta tecnología en transcriptómica, es la posibilidad, no sólo de cuantificar los diferentes transcritos, sino también de determinar las diferentes isoformas expresadas e incluso detectar las variaciones a nivel genético en los RNA mensajeros.

Por último, el abordaje metagenómico en el campo concreto de la fitopatología, permite estudiar patógenos sin tener ninguna información previa, permitiendo encontrar virus, bacterias u hongos previamente desconocidos.

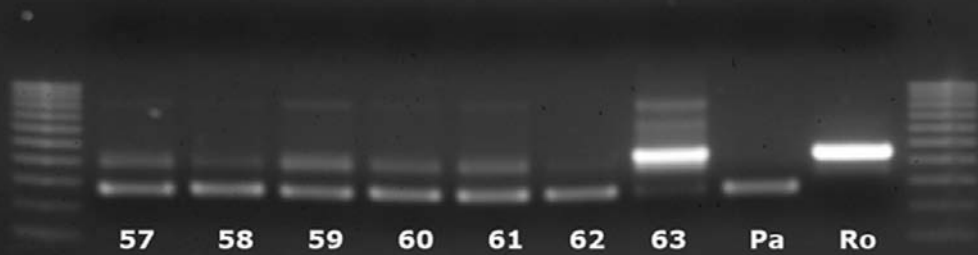
Durante esta ponencia se hablará del fundamento de la tecnología de secuenciación 454, y se presentarán diferentes ejemplos de aplicación en campos de utilidad a la comunidad de fitopatólogos.

**RESÚMENES DE
COMUNICACIONES
ORALES**



SESIÓN PLENARIA I:
ETIOLOGÍA Y
DIAGNÓSTICO

PCN - Identificación especie *Globodera*
Campaña 2009-10



19-11-2009

PLE-1

DETECCIÓN DE *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EN *Prunus* spp. ASINTOMÁTICOS MEDIANTE UN PROTOCOLO DE PCR A TIEMPO REAL

Palacio-Bielsa, A.¹, Cubero, J.²; Collados, R.⁴, Berruete, I.¹; Español, M. L.⁴, Sáenz M.², Peñalver, J.³, López, M.M.³, Cambra, M. A.⁴

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Av. Montañana, 930. 50059 Montañana. Zaragoza. E-mail: apalaciob@aragon.es

² Departamento de Protección Vegetal, INIA, Ctra. de La Coruña km 7. 28040 Madrid. E-mail: cubero@inia.es

³ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Ctra. Moncada-Náquera km 4.5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: mlopez@ivia.es

⁴ Centro de Protección Vegetal (CPV). Av. Montañana, 930. 50059 Montañana. Zaragoza. E-mail: mcambra@aragon.es

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (Xap), agente causal de la mancha bacteriana de los frutales de hueso, está considerado como un organismo de cuarentena en la Unión Europea (UE) y la enfermedad tiene graves consecuencias para los cultivares más sensibles de frutales de hueso, almendro y ornamentales del género *Prunus*. La bacteria puede tener una fase epifita y/o permanecer latente y transmitirse mediante el material vegetal de reproducción. Actualmente, la legislación de la UE sólo exige realizar inspecciones visuales en viveros, con el riesgo de permitir el movimiento de plantas asintomáticas portadoras de este organismo de cuarentena. Los métodos convencionales de detección de la enfermedad se basan en técnicas que carecen del nivel de sensibilidad necesario para detectar las infecciones latentes, responsables de la diseminación de la enfermedad a larga distancia.

Por ello, se ha diseñado un nuevo protocolo de detección de Xap mediante PCR a tiempo real empleando una sonda TaqMan. Está basado en una secuencia de un gen presente en una amplia colección de cepas de Xap analizadas, que codifica para una proteína relacionada con el sistema de transporte ABC. Para evaluar la validez del método se ha estudiado la especificidad, eficiencia y sensibilidad de la amplificación. El protocolo desarrollado ha resultado ser específico, sensible y muy eficiente, pudiéndose detectar alrededor de 10² ufc/ml en extractos obtenidos de plantas contaminadas. Este límite es superior al obtenido mediante el único método de PCR convencional disponible. La técnica puesta a punto se ha evaluado con muestras de campo de diversas especies y cultivares de *Prunus* naturalmente infectadas y se ha comparado con las técnicas de PCR convencional y aislamiento, mostrando su mayor sensibilidad.

El nuevo protocolo de PCR a tiempo real es un método muy fiable para el análisis de muestras vegetales tanto con síntomas como asintomáticas y se propone como método de análisis de material de vivero, para programas de certificación, análisis de importaciones, etc.

PLE-2

ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA NECROSIS APICAL DEL NOGAL

Moragrega, C.¹, Montesinos, E.¹, Matias, J.², Aletà, N.³, Rovira, M.²

¹ Institut de Tecnologia Agroalimentària – CITA – XaRTA. Universitat de Girona. Campus de Montilivi s/n 17071 Girona. E-mail: concepcio.moragrega@udg.edu

² Unitat d'Olivicultura, Elaiotecnica i Fruits Secs. IRTA - Mas de Bover. Crta. de Reus - El Morell Km 4,5. 43120 Constantí. Tarragona

³ Unitat de Producció Agroforestal, IRTA-Torre Marimon. 08140 Caldes de Montbui. Barcelona

En los últimos años una nueva enfermedad del nogal (*Juglans regia* L.) que provoca la caída prematura de los frutos y pérdidas de producción ha sido descrita en los países productores de nuez de la zona mediterránea. En España la enfermedad se observó por primera vez en 1997 en Extremadura y ha sido detectado en algunas parcelas de las principales áreas de producción. Los síntomas en los frutos corresponden a necrosis localizadas en la zona apical. En los distintos países afectados por el problema se han realizado estudios para definir los síntomas característicos e identificar a los agentes causantes y factores que predisponen al huésped a la enfermedad, pero hasta el momento no se han obtenido resultados concluyentes.

En este trabajo se presentan los resultados de estudios realizados durante tres periodos vegetativos consecutivos (2006, 2007 y 2008) en fincas comerciales de nogal de la provincia de Tarragona. Se analizaron los síntomas de la enfermedad en los frutos afectados y se monitorizó el progreso de la enfermedad en tres variedades nogal (Hartley, Chandler y Franquette). Paralelamente se aislaron hongos y bacterias asociados a las lesiones, se identificaron en base a características morfológicas y pruebas bioquímicas y se realizaron ensayos de patogenicidad en frutos inmaduros para verificar su papel en el desarrollo de la enfermedad.

En los tejidos de los frutos afectados por necrosis apical se aisló de forma consistente y en elevada frecuencia (>80% de las muestras) la bacteria *X. arboricola* pv. *juglandis*. En menor frecuencia (10-20%) se aislaron distintas especies de los hongos *Fusarium* y *Alternaria*. De estos microorganismos sólo *X. arboricola* pv. *juglandis* produjo los síntomas característicos de necrosis apical al ser inoculada en frutos inmaduros de nogal. Por otra parte, algunos de los aislados de *Fusarium* spp. también se mostraron patogénicos en nogal aunque no reprodujeron los síntomas de la enfermedad.

* Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto INIA RTA2005-00104-00-00.

PLE-3

EL GEN *CYP51C*, UN NOVEDOSO MARCADOR FILOGENÉTICO PARA DISTINGUIR DIFERENTES ESPECIES DEL GÉNERO *Fusarium*

Fernández-Ortuño, D., Loza-Reyes, E., Rogers, S.L., Fraaije, B.A.

Fungicide Resistance Group, Centre for Sustainable Pest and Disease Management, Department of Plant Pathology and Microbiology, Rothamsted Research, Harpenden, Hertfordshire AL5 2JQ, United Kingdom

La fusariosis de la espiga (FE) es una de las enfermedades más devastadoras en los cultivos de trigo y cebada a nivel mundial, causando pérdidas de hasta un 50% en condiciones de epidemias severas. Diversas especies del género *Fusarium*, como *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. langsethiae*, *F. poae* y *Microdochium nivale* (*F. nivale*) han sido descritas como agentes causales de FE en el Reino Unido, sin embargo, un complejo de hasta 17 especies han sido asociadas en diferentes áreas productoras de estos cultivos en el mundo. La característica más relevante de esta enfermedad es la producción de micotoxinas por parte de las diferentes especies, representando una seria amenaza para la salud humana y animal.

El gen *CYP51* codifica para la proteína 14 alfa-esterol demetilasa, enzima clave en la ruta de biosíntesis de ergosterol, fitosterol y colesterol en hongos, plantas y mamíferos, respectivamente. Un mecanismo común de resistencia a azoles en hongos es a través de mutaciones o sobreexpresión de este gen. En hongos ascomicetos como *Aspergillus* spp., *Magnaporthe oryzae*, *Rhynchosporium secalis* y *Pyrenophora tritici-repentis* esta enzima esta codificada por dos genes diferentes (*CYP51A* y *CYP51B*) sin embargo, tres copias de este gen (*CYP51A*, *CYP51B* y *CYP51C*) sólo han sido descritas en *Fusarium* spp. y parece ser una característica única de este género.

En este estudio, hemos investigado si el gen *CYP51C* podría ser usado como marcador filogenético para distinguir diferentes *Fusarium* spp. al igual que han sido usados otros genes como el de la beta-tubulina, factor de elongación 1-alfa o las secuencias ITS del ADN ribosómico. El análisis molecular y filogenético basado en 46 secuencias del gen *CYP51C* en un total de 18 *Fusarium* spp. ha revelado suficiente variabilidad como para poder distinguir entre las diferentes especies, obteniéndose una clara correlación entre los principales linajes filogenéticos y la capacidad de producir micotoxinas. Además, esta variabilidad nos ha permitido diseñar oligos especie-específicos, pudiendo diferenciar, a través de ensayos de PCR, a *F. asiaticum*/ *F. vorosii*, *F. avenaceum*/ *F. tricinctum*, *F. cerealis*, *F. equiseti* y *F. poae* del resto de especies causales de FE. Una detección temprana nos ayudará a llevar a cabo un diseño más racional en los programas de control de esta importante enfermedad.

PLE-4

ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *Sclerotium rolfsii* EN REGIONES DE CLIMA MEDITERRÁNEO

Remesal, E.¹, Landa, B.B.¹, Jiménez-Gasco, M.M.², y Navas-Cortés, J.A.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Apdo. 4084, 14080 Córdoba.

² Dept. of Plant Pathology, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, EE.UU. E-mail: jnavas@ias.csic.es

La adecuación y eficiencia de estrategias de control integrado de enfermedades dependen en gran medida del conocimiento de la estructura de las poblaciones sobre las que se aplican. En este estudio se plantea analizar la estructura genética de poblaciones de *Sclerotium rolfsii* como agente de la podredumbre blanca de la remolacha azucarera de siembra otoñal en países de clima Mediterráneo donde este patógeno actúa de forma devastadora.

Para ello, a partir de 468 aislados monoesclerociales obtenidos de 18 localidades de diferentes países incluyendo: Chile (4), Italia (1), Portugal (5) y España (8), se identificaron 13 grupos de compatibilidad micelial (GCMs) atendiendo a la compatibilidad-incompatibilidad micelial entre todos ellos. Los GCM i y iii presentaron una amplia distribución geográfica, mientras que el resto se compuso de uno o muy pocos aislados con una distribución muy restringida. La diversidad genética de cada uno de estos grupos se estudió mediante: (a) análisis de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) de la región ITS del ADNr (ITS-RFLP) con los enzimas de restricción *A*lul, *H*pall, *R*sal y *M*bol; (b) análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLPs) con dos combinaciones de cebadores; (c) secuenciación y análisis filogenético de genes que codifican para la subunidad mayor de la ARN polimerasa II (RPBII) y el factor de elongación de la traducción 1-alfa (TEF).

El análisis global de diversidad genética permitió distinguir cuatro grupos ITS-RFLP asociados con los GCMs, tres de ellos específicos de *S. rolfsii* y uno similar a los descritos para *Sclerotium delphinii*, y la existencia de «clusters» asociados a GCMs y procedencia geográfica. Asimismo, se han encontrado patrones de secuencias del gen RPBII característicos de cada uno de los GCM, que se han constatado mediante ensayos ciegos de secuenciación y enfrentamientos con aislados de GCM conocido, lo que nos ha permitido establecer por primera vez un conjunto estandarizado de aislados tipo de referencia de GCM en *S. rolfsii* que será de gran utilidad en estudios de biología de poblaciones de este patógeno.

*Investigaciones subvencionadas por: AGL2005-0075

PLE-5

**LA NECROSIS FOLIAR DEL CAQUI: UNA NUEVA ENFERMEDAD
CAUSADA POR *Mycosphaerella nawae***

Berbegal, M.¹, Pérez-Sierra, A.², Armengol, J.², García-Jiménez, J.²

¹ Fundación Agroalimed-Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n 46022, Valencia. E-mail: mobermar@etsia.upv.es

² Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n 46022, Valencia

El cultivo del caqui se ha convertido en una alternativa rentable a los cítricos en la Comunidad Valenciana. Desde 2002, la superficie de cultivo ha aumentado considerablemente llegando en la actualidad a superar las 4.000 ha concentradas principalmente en la provincia de Valencia donde el 96% del caqui cultivado es del cv. Rojo Brillante. En agosto de 2008, se detectaron unos síntomas foliares nunca antes observados en parcelas de caqui situadas en diferentes localidades de La Ribera Alta (Valencia). Se prospectaron 19 parcelas afectadas para tipificar la sintomatología de la nueva enfermedad e identificar su agente causal.

Se caracterizó el síndrome de la enfermedad consistente en la aparición de zonas necróticas en las hojas, clorosis, defoliación, madurez y abscisión anticipada de los frutos. De los márgenes de las lesiones en las hojas se aisló un hongo de forma consistente. Los caracteres morfológicos de los cultivos puros así como de las ascosporas obtenidas a partir los pseudotecios formados en invierno en las lesiones de hojas afectadas coincidieron con las descritas para el patógeno *Mycosphaerella nawae* Hiura & Ikata. La enfermedad de la necrosis foliar del caqui causada por *M. nawae* se ha descrito en la República de Corea y Japón. Mediante la amplificación por PCR se obtuvieron secuencias de la región ITS del ADNr correspondientes a los aislados de *M. nawae* obtenidos en parcelas de caqui afectadas situadas en La Ribera Alta. Las secuencias de todos los aislados resultaron idénticas entre sí e idénticas a la obtenida de un aislado de *M. nawae* procedente de la República de Corea.

La implicación de *M. nawae* en la enfermedad se confirmó mediante ensayos de patogenicidad. Se inocularon 20 plántones sanos de caqui de 2 años de edad pulverizando sobre las hojas 20 ml de una suspensión de micelio (5 x 10⁵ UFC ml⁻¹) preparada a partir del aislado MY2 de *M. nawae*. Los testigos se pulverizaron con agua estéril. Los plántones inoculados se incubaron a 20 °C en una cámara de cultivo con fotoperiodo de 12 h cubiertos con un plástico semitransparente. Los primeros síntomas consistentes en pequeñas lesiones sobre las hojas aparecieron a los 15 días de la inoculación y un mes después todos los plántones inoculados mostraron lesiones en las hojas, clorosis y defoliación severa mientras que los testigos no se apreció ningún síntoma de la enfermedad. El patógeno se reaisló de las lesiones completando los postulados de Koch.

PLE-6

VARIABILIDAD GENÉTICA DE AISLADOS DEL VIRUS DE LA SHARKA *Plum pox virus* EN ESPAÑA TRAS 25 AÑOS DE SU DETECCIÓN

Corrales, A.R.¹, Pérez, J.J.², López-Fabuel, I.¹, Gorris, M.T.¹, García, J.A.², Cambra, M.¹, Olmos, A.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada a Nàquera km 5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: aolmos@ivia.es

² Centro Nacional de Biotecnología. CSIC. Darwin 3, Campus de Cantoblanco, 28049 Madrid. E-mail: jagarcia@cnb.csic.es

Plum pox virus (PPV) es el agente causal de la enfermedad de la sharka de los frutales de hueso y está presente en la mayoría de países europeos, mediterráneos y en algunos países asiáticos y americanos. El virus se detectó en España en 1984 y desde entonces se ha dispersado a prácticamente todas las zonas productoras de *Prunus*. Su principal modo de dispersión a larga distancia en España ha sido el tráfico de material vegetal asintomático pero infectado. A corta distancia la especie de pulgón *Aphis spiraecola* ha sido y continúa siendo su principal vector natural que lo transmite de forma no persistente con más eficacia que otras especies.

PPV pertenece a la familia *Potyviridae*, caracterizada por tener como material genético una hebra simple de RNA de polaridad positiva de unos 10 kb. Esta hebra presenta la proteína VPg en su extremo 5' y está poliadenilada en 3'. La ausencia de «proofreading» en su RNA replicasa implica un potencial importante para la variabilidad de su genoma, además de su transmisión por pulgones y los cambios de especie de hospedador que actuarían como cuello de botella.

En el marco del proyecto europeo SharCo (KBBE-7FP 204429-CE) y para estudiar la diversidad de aislados del virus, entre ellos la de los españoles, y establecer árboles filogenéticos, se han recolectado 100 aislados de PPV de diferentes áreas geográficas y hospedadores, infectados muy probablemente en diferentes años en España. Estos aislados se mantienen en colección liofilizados. La mayoría de ellos son de tipo común Dideron (PPV-D) pero el estudio incluye aislados agresivos tipo Marcus (PPV-M) recolectados en focos erradicados o en proceso de erradicación. Se han amplificado dos secuencias parciales del gen de la CP y de la región P3-6K1 y CI.

El análisis de las secuencias obtenidas ha mostrado, en muchas ocasiones, mezcla de poblaciones con una gran variabilidad dentro del tipo D, indicando una estructura de cuasiespecies, no señalada hasta ahora.

**SESIÓN SIMULTÁNEA I:
ETIOLOGÍA Y
DIAGNÓSTICO 1**



SIM-7**CARACTERIZACIÓN PATOGENICA Y MOLECULAR DE AISLADOS DE *Stemphylium vesicarium* PROCEDENTES DE PLANTACIONES DE PERAL**

Ruz, L., Puig, M., Moragrega, C., Montesinos, E., Llorente, I.

Institut de Tecnologia Agroalimentària-CIDSAV-XaRTA, Universitat de Girona. Campus de Montilivi s/n 17071. Girona. E-mail: isidre.llorente@udg.edu

La estemfiliosis del peral es una de las enfermedades fúngicas con mayor incidencia económica en el cultivo causada por *Stemphylium vesicarium* (cuya fase sexual corresponde a *Pleospora allii*), y que en los últimos años ha mostrado una clara expansión en Europa. Los síntomas son lesiones necróticas en frutos y hojas.

El conocimiento de la estructura poblacional del hongo en plantaciones de peral en base a su capacidad patogénica y la determinación de la frecuencia de aislados patogénicos/no patogénicos en la población es clave para un mayor entendimiento de las fuentes de inóculo y de las etapas de la enfermedad. Además de su contribución en el diseñar y planificación de las medidas de control.

En este trabajo se realizó la caracterización patogénica de una colección de más de 100 aislados de *Stemphylium vesicarium* procedentes de plantaciones de peral naturalmente afectadas por la enfermedad, obtenidos a partir de aspiración del inóculo del aire, hojas y frutos infectados y material vegetal con pseudotecas del hongo. La capacidad patogénica de los aislados se determinó mediante bioensayo en hojas separadas de la planta y en frutos inmaduros de variedades de peral sensibles a la enfermedad.

La caracterización molecular se realizó mediante un análisis de polimorfismos amplificadas al azar (RAPDs y AFLPs) y mediante secuenciación de la región ITS e IGS del ADNr y del gen *gpd*, de una selección de 40 aislados representativos de los distintos niveles de virulencia. Con la información proporcionada por los RAPDs y AFLPs se construyó una matriz binaria de 0 y 1 y se realizó un análisis de similitud entre aislados. A partir de las secuencias de cada gen se realizó un dendrograma.

El 22% de los aislados se mostraron no patogénicos en peral, explicado por el saprofitismo de *S. vesicarium*. Este grupo incluía el 47% de los aislados de muestras de aire, el 66% de los aislados de especies no huésped, el 21% de los aislados de restos de peral en el suelo y el 5% de los aislados de infecciones en peral.

Como resultado de los análisis de polimorfismos se concluye que existe una buena agrupación de los aislados en base a su patogenicidad y al origen de aislamiento.

* Este trabajo se ha realizado en el marco de los proyectos AGL2006-04987/AGR y AGL2009-09829.

SIM-8

IMPORTANCIA DE LAS INFECCIONES DE *Tomato chlorosis virus* EN PIMIENTO: INCIDENCIA EN EL SUDESTE PENINSULAR Y DAÑOS OCASIONADOS

Fortes, I. M., Moriones, E., Navas-Castillo, J.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), 29750 Algarrobo-Costa (Málaga). E-mail: jnavas@eelm.csic.es

Tomato chlorosis virus (ToCV, género *Crinivirus*, familia *Closteroviridae*) es el agente causal del amarilleo del tomate, que se transmite por las especies de mosca blanca *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum* y *T. abutilonea*. El síntoma característico de ToCV en tomate es una clorosis internervial de las hojas inferiores que posteriormente se extiende hacia la parte superior de la planta. ToCV es un virus emergente en las regiones productoras de tomate de las zonas de clima tropical, subtropical y templado de todo el mundo. En España, ToCV se ha asociado con el síndrome de amarilleo observado en cultivos de tomate bajo invernadero desde 1997, con incidencias que con frecuencia alcanzan el 100%. En el año 1999 se observaron por primera vez plantas de pimiento cultivadas en invernadero en la provincia de Almería con síntomas de amarilleo internervial y abarquillado en las hojas más viejas, acortamiento de los entrenudos y reducción de la altura de las plantas. El análisis molecular confirmó la presencia de ToCV en estas plantas, siendo ésta la primera descripción mundial de pimiento como huésped natural de ToCV.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar la incidencia de ToCV en los cultivos de pimiento del sudeste peninsular y los daños ocasionados por este virus en condiciones controladas. Por una parte, hemos estudiado la incidencia de la enfermedad en las principales zonas de cultivo de las provincias de Murcia, Almería y Málaga, mediante muestreos sistemáticos desde 2006 a 2008. Además, hemos desarrollado un sistema de inoculación en condiciones controladas mediante *B. tabaci* que nos ha permitido determinar la sintomatología y los daños que este virus ocasiona en diferentes cultivares de pimiento. La incidencia se ha mostrado variable según las zonas y años estudiados. En condiciones controladas, las plantas infectadas con ToCV presentaron una apreciable reducción de altura y síntomas de amarilleo internervial en hojas basales, que además se apreciaban ligeramente engrosadas, enrolladas longitudinalmente y quebradizas al tacto. Las hojas localizadas a una altura media de las plantas infectadas presentaban una morfología peculiar, con el extremo afilado. Debe destacarse que se observó una reducción significativa de la producción en las plantas infectadas como consecuencia de un menor número frutos y menor tamaño de los mismos.

SIM-9**DECAIMIENTO Y MUERTE DE ALMENDROS CAUSADA POR
*Phytophthora taxon niederhauserii***

Pérez-Sierra, A., León, M., Álvarez, I.A., Alaniz, S., Berbegal, M., García-Jiménez, J., Abad-Campos, P.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: aperesi@eaf.upv.es

A finales de verano de 2007 se detectó el decaimiento y muerte de plantones de almendro de dos años de edad en un vivero en la Comunidad Valenciana. Los árboles afectados mostraban hojas cloróticas de tamaño reducido, exudación de goma a lo largo del tronco y marchitez. De las plantas afectadas se aisló consistentemente *Phytophthora* sp. de las raíces y de los troncos. También se confirmó la presencia de la misma *Phytophthora* sp. en el suelo muestreado alrededor de las raíces de los árboles afectados. Los aislados fueron caracterizados morfológicamente resultando ser heterotáticos, con esporangios elipsoides a obpiriformes, persistentes, no papilados y que presentaban proliferación externa e interna. Las hifas presentaban hinchamientos hifales redondeados formando cadenas y no se observó la presencia de clamidosporas. Se realizó un estudio de crecimiento de los aislados a las temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 37, 38, 39 y 40 °C, resultando los 30 °C como temperatura óptima de crecimiento. Estas características no se ajustaron a la descripción morfológica de ninguna de las especies de *Phytophthora* descritas. A nivel molecular se amplificaron y secuenciaron la región ITS del ADNr y fragmentos de los genes: factor de elongación 1- α , β -tubulina y citocromo oxidasa I mitocondrial. Las secuencias fueron comparadas con las secuencias depositadas en GenBank y resultaron similares a las secuencias de *Phytophthora taxon niederhauserii*. Los estudios filogenéticos con las secuencias de los distintos genes situaron a esta especie en el clado 7b. Se realizaron pruebas de patogenicidad sobre plantones de almendros confirmándose así los Postulados de Koch. Se realizaron pruebas de resistencia a metalaxil y mefenoxam y todos los aislados resultaron sensibles a ambos fungicidas.

SIM-10

**AJO Y CEBOLLA HUÉSPEDS ALTERNATIVOS DE *Fusarium* spp.
PATÓGENOS DE ESPÁRAGO**

Molinero-Ruiz, M.L., Rubio-Pérez, E., González-Domínguez, E., Basallote-Ureba, M.J.

IFAPA Las Torres-Tomejil, Apdo. Oficial, 41200 Alcalá el Río (Sevilla)

El espárrago es un cultivo de gran importancia social y económica en el sur de España. Los altos niveles de producción durante los 8-10 años que siguen al establecimiento de las plantaciones se ven reducidos con frecuencia por la podredumbre de rizomas y raíces causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* (*Foa*), *F. proliferatum* (*Fp*) y *F. solani* (*Fs*). La infestación de los suelos y la utilización de garras infectadas por dichos patógenos resultan en un decaimiento prematuro de las plantaciones que limitan sus rendimientos. En las zonas productoras del sur de España se incluyen frecuentemente cultivos de ajo y cebolla en rotación con espárrago. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de estos dos cultivos sobre el potencial de inóculo de las especies de *Fusarium* patogénas de espárrago. Se llevaron a cabo inoculaciones con *Foa*, *Fp* o *Fs* de plántulas de espárrago, ajo y cebolla mediante inmersión del sistema subterráneo y las bases de los tallos en una suspensión de inóculo (10⁷/ ml). Después de tres meses de incubación, en condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad, se evaluaron los síntomas de necrosis en raíces y base del tallo en espárrago, y en raíces y discos basales en ajo y cebolla. Además, se determinó el peso fresco de las plantas y, posteriormente, el nivel de colonización de los tejidos radicales por las tres especies de *Fusarium* mediante siembra en medio semiselectivo. *Foa*, *Fp* y *Fs* ocasionaron síntomas de necrosis y podredumbre de raíces y disco basal en ajo. En cebolla sólo se observó la misma sintomatología cuando las plántulas se inocularon con *Fs*. En ajo, *Fp* y *Fs* también ocasionaron pérdidas de peso. Las tres especies se recuperaron de los tejidos radicales de ajo y cebolla, observándose los niveles más altos de colonización en ajo, mientras que en cebolla se determinaron los más bajos. Nuestros resultados muestran que *Foa*, *Fp* y *Fs* patógenos de espárrago lo son también para ajo y *Fs* para cebolla y sugieren una falta de especificidad huésped dentro de *Asparagales*. En el control integrado de la enfermedad en zonas productoras de espárrago con historial de decaimiento o podredumbre de raíz y rizoma, debería considerarse la exclusión de los cultivos de ajo y cebolla, e identificarse cultivos no huésped de estas especies de *Fusarium* spp. para ser incluidos en las rotaciones.

SIM-11**ETIOLOGÍA Y RESISTENCIA VARIETAL DEL CHANCRO Y DESECACIÓN DE RAMAS DEL OLIVO**

Pérez, M.¹, Layosa, J. A.¹, Rhouma, A.², Vergara, A.¹, Moral, J.¹, Trapero, A.¹

¹ Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

² Olive Tree Institute, Mahrajène City, BP208, 1082 Tunis, Tunisia. E-mail: ali_rhouma@yahoo.fr

Durante los últimos años la variedad de aceituna de mesa 'Gordal Sevillana' está mostrando una elevada incidencia de desecación y muerte de ramas asociada a coloración vascular y chancros en Andalucía. Un problema similar se ha diagnosticado en varios cultivares de olivo en Túnez. En este trabajo se presentan resultados de los experimentos conjuntos realizados sobre este síndrome en ambos países. Siete especies fúngicas, pertenecientes a los géneros *Cytospora*, *Coniothyrium*, *Neofusicoccum*, *Phoma* y *Phomopsis*, se han aislado consistentemente de las ramas afectadas. La capacidad patogénica de estas especies ha sido evaluada mediante la inoculación de ramas de 'Gordal Sevillana'. La inoculación se realizó depositando bloques de agar colonizados por los diferentes aislados fúngicos en zonas de las ramas en las que previamente se había practicado una herida. El material vegetal inoculado y las condiciones de incubación fueron: i) ramas separadas incubadas en cámaras húmedas a 22±2 °C, ii) plántones de olivo cultivados en macetas en invernadero (10-30 °C), y iii) olivos adultos en campo (primavera 2010). Además se ha incluido un aislado de *Colletotrichum acutatum* causante de podredumbre de aceituna y desecación de ramas. Aunque todavía no se han completado los experimentos en invernadero y campo, la especie *N. mediterraneum* ha sido la más virulenta seguida de dos especies todavía no identificadas de *Phoma* y *Cytospora*. Las 6 especies restantes han resultado escasamente patogénicas.

Adicionalmente, se ha evaluado la resistencia a *N. mediterraneum* de 9 cultivares de aceituna de mesa de elevada difusión e importancia, inoculando el mismo tipo de material vegetal que en el experimento anterior (ramas separadas, plántones y olivos). En este experimento, el cultivar 'Gordal Sevillana' ha resultado el más susceptible. Los 8 cultivares restantes ('Ascolana tenera', 'Hojiblanca', 'Manzanilla cacereña', 'Manzanilla de Sevilla', 'Morona', 'Santa Caterina', 'San Agostino' y 'Verdial de Huévar') han mostrado una reacción similar siendo menos susceptibles que 'Gordal Sevillana'.

El conocimiento sobre la etiología y la resistencia varietal de este nuevo síndrome del olivo servirá para establecer medidas de control eficaces.

SIM-12

**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Fusarium* TRANSMITIDAS
POR INSECTOS VECTORES EN CONÍFERAS DE GALICIA**

Aguín, O., Escofet, P., Pérez, R., Mansilla, J.P.

Estación Fitopatológica do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra. E-mail: olga.aguin@depo.es

El género *Fusarium* incluye hongos que causan daños en un amplio rango de especies vegetales. Dentro de las especies fitopatógenas más importantes de este género se incluye a *F. circinatum* (patógeno de cuarentena), causante del cancro resinoso que provoca importantes pérdidas económicas en la producción de coníferas y a *Fusarium proliferatum* y *Fusarium verticillioides* que, no siendo especies de cuarentena, sí pueden causar daños en semillas y plántulas de pino. Una gran variedad de insectos pueden actuar como transmisores de especies de este género. El objetivo de este trabajo fue determinar los insectos involucrados en la transmisión de *Fusarium* spp. en Galicia. Durante 2008 y 2009, se analizaron 3000 insectos recogidos en trampas Lindgren de 12 embudos y trampas Theysohn colocadas en masas de *Pinus pinaster* y *Pinus radiata* de las cuatro provincias gallegas. La detección de *Fusarium* spp. se realizó disponiendo los insectos capturados en medios de cultivo específicos. La identificación de especies de *Fusarium* se llevó a cabo a través de las características morfológicas de las colonias y mediante análisis molecular. Para el estudio molecular se amplificaron dos regiones del ADN fúngico: la región intergénica del ADN ribosomal (ITS) y una región del gen nuclear que codifica para el factor de elongación (EF). La detección e identificación de *F. circinatum* se llevó a cabo directamente a partir de los insectos sin aislamiento fúngico previo en cultivo. Para la obtención del ADN de *F. circinatum*, los insectos se lavaron con un tampón de extracción y la amplificación del ADN extraído, se realizó siguiendo dos procedimientos de PCR a tiempo real. El estudio morfológico y el análisis molecular permitieron identificar 11 especies de *Fusarium* asociadas a insectos, siendo las más abundantes *F. circinatum*, *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. proliferatum*. En todas las especies de insectos estudiadas se ha detectado alguna especie de *Fusarium*, a excepción de *Hylastes attenuatus* e *Hylastes ater*. *Ips sexdentatus* ha demostrado ser el insecto vector más importante, ya que en los ejemplares analizados se han detectado 9 especies de *Fusarium* diferentes.

**SESIÓN SIMULTÁNEA II:
EPIDEMIOLOGÍA 1**



SIM-13

**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LA TRANSMISIÓN
DE *Candidatus Liberibacter* spp. CAUSANTE DE HUANGLONGBING
EN CÍTRICOS**

Bertolini, E.¹, Lopes, S.², López, M.M.¹, Cambra, M.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada-Náquera km 4.5. 46113 Moncada. Valencia. Correo-e: mcambra@ivia.es

² Fundecitrus. Av. Adhemar de Barros, 201.14807-040, Araraquara, SP, Brasil. Correo-e: slopes@fundecitrus.com.br

Huanglongbing (HLB) es la enfermedad bacteriana más grave de los cítricos y representa una grave amenaza para las regiones cítricas del Mediterráneo. La bacteria coloniza el floema, es transmitida por material vegetal de propagación y por las psilas, *Diaphorina citri* y *Trioza erytreae*. La enfermedad no ha sido detectada en la Unión Europea donde se considera al agente causal y a sus vectores como organismos de cuarentena. La sintomatología se caracteriza por un decaimiento rápido de los árboles, incluyendo amarilleamiento de brotes, moteado difuso en hojas y deformación e inversión de color en frutos. El agente causal es una bacteria fastidiosa Gram negativa clasificada como *Candidatus Liberibacter* spp. Están descritas tres especies que fueron denominadas según su origen: *Ca. Liberibacter africanus* (Laf) en África, *Ca. Liberibacter asiaticus* (Las) en Asia y *Ca. Liberibacter americanus* (Lam) en Brasil. Prácticamente todas las especies y cultivares de cítricos son susceptibles a la enfermedad. La presencia de una determinada especie de *Ca. Liberibacter* en una región esta influenciada por la temperatura siendo la especie asiática tolerante y la especie americana susceptible al calor. En Brasil, se ha estudiado el efecto de la temperatura en el título y la transmisión de las especies de Lam y Las. Se han inoculado por injerto plantas de distintas variedades de naranjo dulce con ambas y se han mantenido en invernadero a diferentes temperaturas (22 °C, 24 °C, 27 °C y 32 °C). Se ha monitorizado el título de las dos especies bacterianas inoculadas durante dos años mediante PCR a tiempo real y se ha determinado la eficiencia de la transmisión por injerto de las mismas. Los resultados obtenidos sugieren que hay diferencias en la eficiencia de la transmisión directamente relacionadas con los títulos de cada bacteria encontrados en la especie injertada. La diferencia observada en el título de ambas especies en función de la temperatura, también puede estar implicada en la eficiencia de transmisión por psilas e influenciar la dispersión de HLB en distintas zonas geográficas.

SIM-14

MODELOS DE FAVORABILIDAD CLIMÁTICA PARA LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL GARBANZO Y SUS AGENTES DE BIOCONTROL EN ESCENARIOS DE CLIMA ACTUAL Y FUTUROS ASOCIADOS AL CAMBIO CLIMÁTICO

Landa, B.B. y Navas-Cortés, J.A.

Instituto de Agricultura Sostenible, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apdo. 4084, 14080 Córdoba. E-mail: jnavas@ias.csic.es

Las condiciones ambientales ejercen una marcada influencia sobre los diferentes componentes de los patosistemas agrícolas, regulando tanto el desarrollo de enfermedad como el nivel de eficacia de medidas de control, siendo las de naturaleza biológica (ACBs) especialmente vulnerables a su variación. En este sentido, las modificaciones ambientales que se prevé pueda conllevar el Cambio Climático podrán modificar no solo el desarrollo de la enfermedad sino la actividad de ACBs.

En este trabajo se han desarrollado modelos de riesgo para el desarrollo de la Fusariosis vascular del garbanzo (FVG) causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (*Foc*) y de eficacia de sus ACBs en escenarios de clima actual y futuro. Para ello, se han desarrollado modelos de simulación ecolimática CLIMEX™ utilizando una base de datos meteorológicos global interpolada espacialmente (10» malla, CRU, University of East Anglia, Norwich, UK) y parámetros biológicos englobados en un índice ecolimático (IE) que cuantifica la adecuación de un determinado lugar para el establecimiento de una especie microbiana en estudio (i.e., *Foc* y ACBs). En una primera fase, se estimaron los parámetros asociados a la distribución de *Foc* y ACBs en un proceso iterativo en base a los valores umbrales y óptimos de temperatura y humedad de suelo determinados experimentalmente en investigaciones previas así como en la distribución geográfica conocida del patógeno. Finalmente, se estimaron los cambios en el IE y/o distribución geográfica de *Foc* y ACBs en función de diversos escenarios de cambio climático establecidos por el IPCC. El modelo estimó virtualmente todas las áreas geográficas donde *Foc* ha sido descrito como climáticamente adecuadas para la ocurrencia de FVG. Así, en las condiciones de clima actual, las áreas de clima Mediterráneo (sur de Europa, sur y norte de América y Australia), Oriente medio, subcontinente indio, y centro y sur de África, presentan condiciones climáticas adecuadas para la supervivencia de *Foc* y desarrollo de la FVG. El incremento de temperatura y la modificación de los patrones de precipitación asociados a los diversos escenarios de cambio climático extenderían el área geográfica con condiciones climáticas adecuadas para la FVG al centro de Europa y la mayor parte de EE.UU., pero reduciría su ocurrencia en la región central de África y sur de Asia. En relación a la actividad de los ACBs, ésta es óptima en condiciones de clima actual en las regiones de clima Mediterráneo y Oriente medio, pero podría extenderse su actividad de biocontrol a Europa central y EE.UU. en condiciones de clima futuro.

SIM-15

FUENTES DE INÓCULO Y DINÁMICA DE LA INFECCIÓN EN LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO CAUSADA POR *Colletotrichum* spp.

Moral, J. y Trapero, A.

Dpto. Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edif. Celestino Mutis, 14071 Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

La antracnosis causada por *Colletotrichum* spp. es la enfermedad más importante del olivo en regiones húmedas donde se cultivan variedades susceptibles. Las aceitunas momificadas son la principal fuente de inóculo del patógeno; aunque el papel de las hojas afectadas no es bien conocido. A su vez, es esencial desarrollar modelos epidémicos de la enfermedad que nos ayuden a establecer medidas de control más racionales. En este trabajo, se estudia el efecto de las condiciones ambientales en la producción de inóculo en frutos momificados, la evolución del patógeno a lo largo del ciclo del cultivo en las momias y las hojas, y la dinámica de infección en las aceitunas.

Cuando aceitunas momificadas fueron incubadas independientemente a distintas temperaturas (de 5 a 35 °C durante 72h) y tiempos de humectación (de 0 a 168h a 22 °C) pudo observarse que: la producción de conidios mostró un óptimo entorno a 20 °C y que ésta aumentó de forma lineal con el tiempo de humectación de 0 a 96h mostrando un descenso acusado a 168h. A su vez, en momias sometidas a procesos sucesivos de incubación y descarga de esporas mediante lavado, la producción de conidios disminuyó exponencialmente con el número de descargas. En otro ensayo, utilizando frutos con podredumbre (jabonosa) pero no momificados pudo demostrarse que el patógeno produce más inóculo en los frutos del cv. susceptible 'Hojiblanca' que en el resistente 'Picual', 4.7×10^5 y 2.6×10^5 conidios/mm² de fruto afectado, respectivamente. En condiciones de campo, los frutos momificados situados en la copa del olivo produjeron una elevada cantidad de inóculo a lo largo de todo el ciclo del cultivo observándose picos acusados de esporas al inicio del otoño. La producción de conidios disminuyó de forma drástica cuando las momias se situaron en el suelo o enterradas. En ningún caso se han observado cuerpos fructíferos del patógeno (acérvulos) en hojas en campo aun así, el patógeno se aisló fácilmente de estas estructuras durante el otoño y la primavera. Finalmente, el seguimiento de la aparición de síntomas en los aceitunas durante otoño e invierno ha permitido observar que la epidemia sigue una curva de saturación cuya velocidad de desarrollo es máxima al finales de otoño-inicio del invierno cuando las aceitunas han cambiado de color; estando la gravedad final de síntomas muy condicionada por la precipitación, la temperatura y la resistencia/susceptibilidad del cultivar.

SIM-16

**LA VERTICILOSIS DEL OLIVO EN ANDALUCÍA:
PASADO, PRESENTE Y PERSPECTIVAS PARA SU CONTROL**

Jiménez-Díaz, R.M.

ETSIAM, Universidad de Córdoba e Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC). Apdo. 4084. 14080 Córdoba. E-mail: ag1jdir@uco.es

En Andalucía se cultivan aproximadamente el 75% de los 2,5x10⁶ ha de olivar existentes en España. A principios de los 1980s, la verticilosis (*Verticillium dahliae*) afectaba olivares en esta región con escasa gravedad y limitada extensión en áreas discretas, y fue considerada una enfermedad de poca importancia por el sector oleícola. En la actualidad, la verticilosis (VO) constituye una seria amenaza para la sanidad del cultivo, y la gravedad y extensión de sus ataques han generado alarma en dicho sector. Este cambio en la importancia y percepción de la enfermedad en Andalucía ha coincidido con modificaciones significativas en el manejo del olivar durante la última década, y la diseminación en Andalucía de un patotipo de *V. dahliae* defoliante (D) y altamente virulento que parece haber desplazado al anteriormente existente menos virulento y no-defoliante (ND). El patotipo D fue diagnosticado en 83% de 65 olivares inspeccionados arbitrariamente en cinco provincias andaluzas y constituyó el 78% de 637 aislados de *V. dahliae* de 433 árboles en ellos. Esta prevalencia del patotipo D repercute notablemente sobre el manejo de la VO porque: i) su umbral de inóculo en el suelo que determina enfermedad grave es mucho más bajo que para el patotipo ND; ii) las hojas caídas de árboles infectados son efectivas para originar infecciones secundarias y dispersar el patógeno dentro y entre olivares, y iii) los cultivares de olivo de interés comercial son en general más susceptibles al patotipo D que al ND. La naturaleza etiológica y epidemiológica de la VO y las repercusiones determinadas por el patotipo D, incluyendo nuevos mecanismos de dispersión, dificultan notablemente el control de la VO. La evidencia científica indica que esta enfermedad es de naturaleza compleja y requiere una estrategia de manejo integrado basada en la recuperación sintomática de la planta enferma, junto con programas de predicción y evaluación de riesgo, y certificación sanitaria y protección biológica del material de plantación, para los cuales son de utilidad los resultados de investigaciones por diferentes grupos en Andalucía, que desafortunadamente no han alcanzado la aplicación práctica deseada. Por el contrario, se ha producido una profusión de recomendaciones al oleicultor de productos supuestamente fitosanitarios para el control de la VO una vez establecida en el olivar, sobre cuya supuesta eficacia no consta información científica contrastada ni publicada. El fracaso de tales productos en el control de la VO está contribuyendo a desacreditar las recomendaciones profesionales para el manejo integrado de la enfermedad.

SIM-17

**EPIDEMIOLOGÍA Y ESTRATEGIAS DE CONTROL DEL VIRUS IYSV
(*Iris yellow spot virus*) EN LA PRINCIPAL ZONA PRODUCTORA
DE CEBOLLA DE ESPAÑA**

Muñoz, R. M.¹, Lerma, M. L.¹, Castillo, P.¹ Lunello, P.²

¹ Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete. Apdo. Correos 451. 02006 Albacete. E-mail: rmg.itap@dipualba.es

² Agrenvec, Parque Científico, Tres Cantos, 28760 Madrid.

El IYSV (familia *Bunyaviridae*, género *Tospovirus*) está incluido en la lista de alerta de la Organización Europea y Mediterránea para la protección de las plantas (EPPO), por el riesgo que supone para los cultivos de iris y cebolla. Su vector en la naturaleza (trips de la cebolla, *Thrips tabaci*) está ampliamente distribuido en Europa.

En España, la producción de cebollas se concentra en Castilla-La Mancha, principalmente en la provincia de Albacete, que recoge el 32% de la superficie nacional, con el 43% de la producción.

Desde la primera detección del IYSV en España (2005), se han llevado a cabo muestreos con el fin de investigar las características epidemiológicas del virus en la provincia de Albacete.

Los muestreos han abarcado desde la campaña 2005 a 2009, incluyendo aproximadamente 100 parcelas y más de 2500 plantas. Además, se han analizado muestras de plántulas de semillero, posibles hospedantes alternativos y se ha determinado la dinámica poblacional del insecto vector. Sobre algunas variedades de interés comercial se realizaron muestreos para conocer el grado de infección y se midieron indicadores de rendimiento (peso y calibre). Los diagnósticos del IYSV se llevaron a cabo mediante la técnica DAS-ELISA y/o IC-RT-PCR en tiempo real con sondas TaqMan, diseñadas sobre secuencias de las variantes locales del virus.

Los resultados obtenidos señalan una elevada dependencia temporal en la detección de la enfermedad, aumentando el porcentaje de plantas positivas conforme el cultivo va aproximándose a su recolección.

Los daños causados por este virus han tenido repercusión económica de importancia en dos parcelas cultivadas a partir de semillero, en las cuales se detectó una infección precoz del IYSV.

En función de los resultados obtenidos, la principal estrategia de control de esta enfermedad en el cultivo de la cebolla, es la utilización en el trasplante de plantas libres del virus.

SIM-18

INFECCIÓN RADICULAR Y COLONIZACIÓN DE PLANTAS DE PERAL INOCULADAS POR RIEGO CON *Erwinia amylovora*

Santander, R.D.¹, Marco-Noales, E.², Ordax, M.², Biosca, E.G.¹

¹ Departamento de Microbiología y Ecología. Universidad de Valencia. Av. Dr Moliner 50. 46100 Burjasot. Valencia. E-mail: elena.biosca@uv.es

² Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera de Moncada a Náquera km 4,5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: emarco@ivia.es

El fuego bacteriano de las rosáceas, causado por *Erwinia amylovora*, es una enfermedad de difícil control debido a la capacidad de supervivencia de esta bacteria en distintos ambientes fuera de plantas susceptibles, y a su fácil diseminación por diferentes vías. Estudios recientes han demostrado que *E. amylovora* es capaz de sobrevivir y mantener su poder patógeno en aguas ambientales, por lo que su posible transmisión a través de este medio no se debería subestimar. Con objeto de investigar dicha posibilidad, se ha evaluado la capacidad de *E. amylovora* de infectar raíces y colonizar plántulas de peral inoculadas por riego a nivel del suelo. Para ello, se regaron perales de un mes de la variedad Passa Crassana con agua inoculada con *E. amylovora* (10^7 y 10^8 UFC/ml), bien con una cepa salvaje o con un transformante marcado con la proteína verde fluorescente. Los ensayos se realizaron con perales con y sin heridas en las raíces, que se regaron periódicamente con el patógeno y se mantuvieron a 26 °C. Las plantas que desarrollaron síntomas de fuego bacteriano se muestrearon a nivel de raíz, tallo y hojas y se analizaron por aislamiento y PCR según el protocolo recomendado por la norma PM 7/20 de la EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2004). Las plantas inoculadas con la cepa transformante también se siguieron por microscopía de epifluorescencia para localizar la bacteria en los tejidos vegetales. Tras la inoculación por riego, se produjo la infección de las plantas (con y sin heridas), a través de las raíces, seguida de una colonización sistémica, que se manifestó generalmente en forma de una necrosis progresiva desde el peciolo, los márgenes, el ápice y/o el nervio central de las hojas hasta el resto de la planta. *E. amylovora* se aisló y se identificó por PCR a partir de raíces, tallo y hojas de las plantas analizadas, detectándose también directamente por PCR en el mismo material vegetal. Además, la cepa transformante se visualizó en el interior de la raíz y del tallo de distintas plantas. En conclusión, *E. amylovora* es capaz de infectar y colonizar plantas susceptibles a través de las raíces, sugiriendo que la transmisión de este patógeno a través del agua de riego es posible, riesgo que se debería considerar para optimizar las medidas preventivas y de control de fuego bacteriano.

**SESIÓN SIMULTÁNEA III:
PATOGENESIS Y
RESISTENCIA 1**



SIM-19

ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA ISLA GENÓMICA DE BIOSÍNTESIS DE FASEOLOTOXINA EN *Pseudomonas syringae*

Bardaji, L., Murillo, J.

Laboratorio de Patología Vegetal, ETS Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, 31006-Pamplona; jesus.murillo@unavarra.es

La fitotoxina faseolotoxina es un tripéptido modificado que inhibe enzimas de las rutas de biosíntesis de arginina y de poliaminas, bloqueando la síntesis de estos compuestos en un amplio espectro de organismos. La biosíntesis de esta toxina se ha descrito en *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola (Pph) y pv. actinidiae (Pac), así como en la cepa CFBP3388 de *P. syringae* pv. syringae (Psy). Los genes implicados en la biosíntesis de la faseolotoxina se han secuenciado en cepas de Pph y Pac, y se agrupan en un cluster de 23 kb (cluster Pht) incluido en una isla genómica (Pht-PAI); la Pht-PAI tiene un tamaño total de 38 kb y está definida en un extremo por cuatro integrasas. Previamente, se ha puesto de manifiesto que la secuencia de la Pht-PAI de cepas de Pph y Pac tiene una identidad mayor del 99%, lo que indica que esta isla se ha adquirido recientemente por uno o ambos patovares mediante transferencia horizontal. En nuestro laboratorio hemos obtenido la secuencia completa del cluster Pht de *P. syringae* pv. syringae CFBP3388 y hemos verificado que tiene el mismo contenido génico y organización, aunque sólo un 83% de identidad de nucleótidos, en comparación con el cluster Pht de Pph/Pac. Adicionalmente, el cluster Pht no está incluido en una isla genómica en la cepa CFBP3388, que también carece de las integrasas que la bordean. La hipótesis más sencilla que es compatible con nuestros resultados es que estos dos clusters fueron heredados por un ancestro de Pph y Psy antes de la evolución separada de ambos patovares. Con el fin de investigar el origen de la isla genómica, hemos abordado el análisis de las integrasas que la flanquean y del DNA asociado a las mismas en otras cepas de *P. syringae*. Mediante hibridación southern de DNA de cepas de los patovares savastanoi, coronafaciens, fraxini, tabaci, ulmi, myricae, glycinea, hibisci, photinae y pisi, hemos observado la presencia de al menos parte de la primera integrasa en 29 de las 73 cepas analizadas. Además, también se detectó parte de la tercera integrasa en 8 de estas 29 cepas, que pertenecen a los patovares myricae, glycinea, hibisci, photinae, pisi y coronafaciens. Hasta la fecha hemos podido verificar por PCR la presencia de las cuatro integrasas consecutivas, en tan solo tres cepas. Los productos de PCR serán objeto de secuenciación y análisis. Las integrasas no están asociadas al cluster Pht en ninguna de estas 29 cepas y parecen estar presentes principalmente en cepas de la genomoespecie 2. Estos datos, junto con el análisis filogenético de las secuencias de las cuatro integrasas, sugieren la asociación de las integrasas al cluster Pht tras un evento de transferencia horizontal en el contexto genético del patovar phaseolicola y su posterior movilización al patovar actinidiae.

SIM-20

**DOS OPERONES IMPLICADOS EN LA PRODUCCIÓN DE MANGOTOXINA
POR *Pseudomonas syringae* pv. *syringae***

Arrebola, E.¹, Carrión, V.¹, Cazorla, F.M.¹, Pérez-García, A.¹, Murillo, J.², de Vicente, A.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, 29071, Málaga. E-mail: ead@uma.es

² Laboratorio de Patología Vegetal, E.T.S. de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona. E-mail: jesus.murillo@unavarra.es

Mangotoxina es una toxina antimetabolito descrita en cepas de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) aisladas de mangos afectados por la necrosis apical. Esta toxina se ha mostrado como un oligopéptido hidrofílico que inhibe la enzima ornitina N-acetiltransferasa, enzima clave en la ruta de biosíntesis de ornitina y arginina

Una primera estrategia de mutación al azar utilizando como cepa parental Pss UMAF0158, dio paso al estudio de al menos dos cluster implicados en la producción de esta toxina.

Estudios basados en el primer cluster han revelado la implicación de un gen que codifica para una peptid sintetasa no ribosomal al que hemos nombrado *mgoA*. Análisis de RT-PCR y mutagénesis por inserción, han mostrado la organización en operón de cuatro genes donde está incluido el gen *mgoA* y se ha localizado otros dos genes cuya interrupción da lugar a mutantes defectivos en mangotoxina. Estos genes, *mgoC* y *mgoD*, se encuentran flanqueando al gen *mgoA* y ambos codifican para proteínas hipotéticas altamente conservadas. Búsquedas realizadas en base de datos de dominios de proteínas han permitido plantear posibles funciones de estas y otras proteínas codificadas en el operón *mgo*. Comparaciones realizadas de éste con genomas secuenciado de diferentes patovares de *Pseudomonas syringae*, han mostrado la presencia de esta organización de genes en todas las cepas utilizadas, aunque ninguna de ellas ha mostrado la capacidad de producir mangotoxina.

Estudios basados en el segundo cluster han mostrado la presencia de una región cromosómica en la cepa parental que no aparecen en las secuencias depositadas y anotadas de cepas de *Pseudomonas syringae*. Esta región, también organizada en operón y nombrada como operón *mbo*, consta de seis ORFs cuya mutación por inserción ha mostrado la implicación directa de cuatro de ellos en la producción de mangotoxina. Por otra parte, la introducción del operón *mbo* en otros patovares, e incluso en otras especies, induce la producción de mangotoxina en las cepas transformadas.

* Este trabajo ha sido financiado por fondos CICE-Junta de Andalucía, ayudas Grupo PAIDI AGR-169 e Incentivos a Proyecto de Excelencia (P07-AGR-02471), cofinanciado con fondos FEDER (EU).

SIM-21

**ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO DE LA RESPUESTA
A PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EN *Dickeya dadantii* 3937
(EX-*Erwinia chrysanthemi*)**

Del Río, I., Cuartas Lanza, R., López-Solanilla, E., Rodríguez-Palenzuela, P.

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas. Universidad Politécnica de Madrid. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. (CBGP UPM-INIA). Campus de Montegancedo, Autovía M-40, km38. Pozuelo de Alarcón 28223. Madrid. E-mail: pablo.rpalenzuela@upm.es

Los péptidos antimicrobianos de plantas constituyen una barrera defensiva frente al ataque de patógenos, siendo un elemento fundamental en la inmunidad innata de las plantas. Trabajos previos de nuestro laboratorio han puesto de manifiesto la relevancia de los mecanismos de resistencia a péptidos antimicrobianos durante el proceso de patogénesis. En este trabajo se presentan los datos obtenidos en el análisis a nivel transcriptómico de la respuesta de *Dickeya dadantii* 3937 (Ex-*Erwinia chrysanthemi*) a tioninas, un péptido antimicrobiano de endospermo de trigo. El análisis mediante hibridación de *microarrays* ha revelado que en respuesta al tratamiento se inducen 14 genes por encima de un umbral de 2X. Se han seleccionado cinco genes para un estudio más detallado: ABF-0016056, ABF-0016070 (*untM*), ABF-0016242 (*arnT*), ABF-0019051 y ABF-0019503 (*virK*). Las funciones putativas de estos genes incluyen mecanismos relacionados con la capacidad de modificación de la superficie de la bacterias, proteólisis de los péptidos o transporte de electrolitos para compensar el efecto sobre la membrana de los péptidos antimicrobianos.

Con el objetivo de estudiar de forma exhaustiva el papel de cada gen en la resistencia a tioninas y en la virulencia de *D. dadantii* 3937, hemos generado una colección de mutantes por transposición al azar. El rastreo de esta colección permitió el aislamiento de mutantes en los genes de interés. Ensayos de virulencia en diversos huéspedes han concluido que todos los mutantes analizados muestran una reducción en la capacidad de macerar tejido vegetal, siendo más patente esta disminución en los mutantes *virK*, *untM* y *arnT*. Por otra parte, ensayos de inhibición *in vitro* en presencia de tioninas han mostrado una disminución significativa del crecimiento en los mutantes *virK* y *arnT*. Estos resultados sugieren, que los genes *virK*, *untM* y *arnT* son claves para la resistencia a péptidos antimicrobianos. Si bien, los otros genes no parecen tener un papel tan relevante en este proceso, su papel podría estar siendo enmascarado por una redundancia de función. Por ello, nuestra línea de trabajo actual, se basa en la caracterización funcional de algunos de estos genes, como la purificación de la proteína codificada por el gen 16056 (putativa proteasa) o el papel de *virK* en la remodelación de la membrana bacteriana.

SIM-22

QUIMIOTAXIS EN XANTHOMONAS CAUSANTES DE ENFERMEDADES EN CÍTRICOS

Sena, M., Ferragud, E., Redondo, C., Cubero, J.

Departamento de Protección Vegetal, INIA. Ctra. de la Coruña km. 7,5 28040. Madrid. E-mail: cubero@inia.es

Xanthomonas citri subsp. *citri* (*Xcc*) es una de las especies del género *Xanthomonas* que causa la cancrrosis de los cítricos, enfermedad caracterizada por la aparición de lesiones necróticas en hojas, ramas y frutos que puede derivar en la caída prematura de estos últimos y ocasionar una acusada defoliación en el árbol. Dentro de *Xcc* se encuentran dos tipos de cepas, el tipo A, que posee un amplio rango de huésped, y los tipos A* y A^w, que en condiciones naturales provocan la aparición de lesiones únicamente en lima mejicana. Además dentro del género *Xanthomonas* existe la especie *X. alfalfae* subsp. *citrumelonis* (*Xac*) que produce la mancha bacteriana de los cítricos, que aunque en principio se consideró una forma de cancrrosis hoy en día se sabe que es una enfermedad mucho menos grave que afecta solamente a plantas de vivero y no a los frutos.

El estudio que se presenta aquí tiene como objetivo final determinar diferencias en relación a la motilidad de distintas cepas de *Xanthomonas* que afectan a cítricos en comparación con *Xanthomonas campestris* (*Xc*) y la importancia que pueden tener los fenómenos de quimiotaxis en los primeros estadios de infección en la cancrrosis. Para la consecución de este objetivo se han realizando ensayos clásicos de quimiotaxis en placa midiendo comparativamente los halos generados en medio semisólido por el movimiento tipo «swimming» de las bacterias expuestas a diferentes agentes químicos. Además se ha diseñado y puesto a punto un nuevo método de evaluación de quimiotaxis cuya validez se ha comprobado comparando nuestros resultados en *Dickeya dadantii* 3937 con resultados obtenidos por otros autores en la misma cepa. Los primeros resultados nos han mostrado diferencias en la motilidad de las bacterias estudiadas tanto entre ellas como en función de los diferentes agentes quimiotácticos evaluados. La mayoría de las diferencias se han encontrado entre *Xcc* y *Xac* y *Xc*, siendo más homogénea la respuesta dentro del grupo de las *Xcc*.

Mediante QRT-PCR se ha estudiado en *Xcc* tipo A la expresión de genes relacionados con motilidad/quimiotaxis en presencia de algunos de los compuestos quimiotácticos. Se ha comprobado que la expresión de genes como *motA* parece estar relacionada con la de un gen regulador de la transcripción de respuesta a leucina (*Irp*), sugiriendo por tanto una posible regulación conjunta. En la actualidad se están construyendo mutantes de alguno de estos genes para evaluar su papel en el inicio de la infección.

SIM-23

**IDENTIFICACIÓN BIOINFORMÁTICA DE FACTORES
DE VIRULENCIA EN EL GENOMA DE *Pseudomonas savastanoi* pv.
savastanoi NCPPB3 335**

Matas, I.M.¹, Ramos, C.¹, Murillo, J.², López-Solanilla, E.³, Rodríguez-Palenzuela, P.³

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora', Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga. E-mail: crr@uma.es

² Departamento de Producción Agraria, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra. E-mail: jesus.murillo@unavarra.es

³ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón. E-mail: pablo.rpalenzuela@upm.es

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (Psv) es la bacteria causante de la tuberculosis del olivo, enfermedad caracterizada por la formación de tumores en ramas, tallos y brotes. El análisis bioinformático de la secuencia del genoma de la cepa de referencia Psv NCPPB 3335, con un tamaño total de 5.856.998 pb y un 5712% de G+C, ha revelado la existencia de 5.232 regiones codificantes, muy conservadas en los genomas de *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A y *P. syringae* pv. *tabaci* 11528. Sin embargo, Psv NCPPB 3335 contiene doce regiones genómicas variables, mayores de 10kb, que están ausentes en los 7 genomas de cepas pertenecientes al complejo *P. syringae* secuenciadas hasta la fecha. Entre los factores de virulencia identificados, cabe destacar aquellos que podrían contribuir a la capacidad de esta cepa para sobrevivir en un huésped leñoso, tales como genes relacionados con el transporte y catabolismo de una gran variedad de compuestos aromáticos de origen vegetal, la duplicación de secuencias relacionadas con la biosíntesis de la fitohormona ácido indol-3-acético (genes *iaaM* e *iaaH*) y su conjugado con el aminoácido lisina (gen *iaaL*), así como un amplio repertorio de secuencias relacionadas con efectores del sistema de secreción tipo III (ver comunicación presentada por Antúñez-Lamas et al.). La secuenciación de este genoma, facilita el diseño y abordaje de estrategias de alto rendimiento dirigidas a la disección de los mecanismos que conducen a la formación de tumores en plantas leñosas por una bacteria fitopatógena.

SIM-24

**PLÁSMIDOS EN ESPECIES DE *Erwinia* PATÓGENAS DE FRUTALES:
¿POSEEN UN ORIGEN Y FUNCIONES COMUNES?**

Barbé, S., Navarro, I., López, M.M., Llop, P.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Crta Moncada-Náquera km 4,5. 46113, Moncada. Valencia.

Las especies de *Erwinia* descritas como causantes de enfermedades en frutales de pepita, especialmente peral y manzano son: *E. amylovora*, *E. pyrifoliae* y *E. piriflorinigrans*.

E. amylovora, causante del fuego bacteriano, contiene generalmente el plásmido pEA29, pero el descubrimiento de cepas que no contienen dicho plásmido llevó a la identificación de uno nuevo denominado pEI70. Los experimentos de inoculación en frutos inmaduros con aislados de *E. amylovora* a los que se les introdujo este nuevo plásmido, mostraron un aumento en la aparición de síntomas, lo que indicaba su relación con la virulencia y/o la capacidad de supervivencia de la bacteria.

E. pyrifoliae, recientemente descrita, está genéticamente muy relacionada con el agente causal del fuego bacteriano y afecta a peral en Corea causando síntomas indistinguibles de los de *E. amylovora*. Se han descrito cuatro plásmidos en *E. pyrifoliae*, y en estudios de hibridación con el plásmido pEA29, se ha demostrado que hay similitud en secuencias de este plásmido con el de 36 kb de tamaño.

E. piriflorinigrans, agente causal de la necrosis de las flores de peral, sólo se ha identificado en Valencia (España) y contiene un plásmido con un tamaño aproximado de 37kb, que ha sido secuenciado y analizado su contenido genético.

En este trabajo se han estudiado los plásmidos presentes en estas especies patógenas relacionadas y que afectan a los mismos huéspedes, utilizando herramientas bioinformáticas y manipulación genética mediante transformación de cepas de estas especies bacterianas.

Se están realizando experimentos para determinar la variación en la virulencia, la velocidad de crecimiento y el metabolismo de las cepas transformadas, para conocer las semejanzas genéticas que presentan estos plásmidos que se encuentran en distintas especies de *Erwinia*.

Se pretende determinar si dichos plásmidos poseen funciones comunes en las tres especies y si tienen un origen común debido a su gran similitud a nivel genético.

**SESIÓN SIMULTÁNEA IV:
CONTROL 1**



SIM-25**ENSAYO DE DOS MACROALGAS MARINAS GALLEGAS
EN LA PROTECCIÓN DE PIMIENTO Y JUDÍA FRENTE
AL HONGO *Botrytis cinerea***

Pardo, C., Bárbara, I., Díaz, J.

Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal e Ecología, Universidade da Coruña, c/ Alejandro da Sota, 1, 15008 A Coruña E-mail: josefv@udc.es

La aplicación de la directiva 91/414/CEE limita la disponibilidad de sustancias activas fitosanitarias autorizadas, que aún se agravará con la entrada en vigor del nuevo Reglamento de comercialización de los productos fitosanitarios. Todo ello obliga a buscar otras alternativas eficaces y respetuosas con el medio ambiente. Una de dichas alternativas sería el uso de extractos de algas, que ya están siendo comercializadas como fertilizantes y fitofortificantes. Existen pocos trabajos que exploren la capacidad de los extractos de algas en la protección frente a patógenos de plantas, y que traten de encontrar el fundamento de su actividad. En este trabajo hemos ensayado la capacidad de extractos de las algas pardas *Ascophyllum nodosum* y *Cystoseira baccata*, autóctonas de Galicia, para proteger a dos plantas de interés agronómico (pimiento y judía) frente a la infección de *Botrytis cinerea*. En los ensayos se ha separado el efecto sistémico, que puede ser debido a resistencia inducida, del efecto local, en el que también podrían influir las propiedades fungistáticas de los extractos y su contenido en nutrientes. Igualmente se ha ensayado la capacidad fungistática de los extractos, tanto en ensayos de crecimiento del hongo patógeno en medio sólido, como en pruebas de germinación de conidios. Además, se ha estudiado el efecto de los extractos sobre varios mecanismos de defensa de la planta: actividades de enzimas hidrolíticas (quitinasa y $\beta(1,3)$ -glucanasa) y niveles de expresión de genes implicados en resistencia, determinados por qPCR. En el futuro se plantea la posibilidad de ampliar estos estudios a otras especies de algas.

SIM-26

IMPORTANCIA DE LOS PELOS RADICALES EN EL PROCESO DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES DE OLIVO POR CEPAS DE *Pseudomonas* spp. EFECTIVAS EN EL BIOCONTROL DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO

Schiliro¹, E.¹, Prieto, P.², Valderrama, R.³, Maldonado-González, M.M.¹, Barroso-Albarracín, J.B.³, Mercado-Blanco, J.¹

¹ Dptos. Protección de Cultivos y ² Mejora Genética Vegetal, Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC, Apdo. 4084, 14080 Córdoba;

³ Dpto. Biología Experimental, Universidad de Jaén, 23071 Jaén

La utilización de bacterias colonizadoras naturales de la rizosfera y con efecto antagonista frente a fitopatógenos del suelo es un elemento de interés en el desarrollo de estrategias de control biológico contra enfermedades que afectan cultivos de relevancia. Por tanto, la identificación de agentes de control biológico (ACBs) con capacidad de colonizar tejidos radicales y de persistir en su interior como endofitos beneficiosos ofrece indudables ventajas al estar éstos adaptados al nicho ecológico donde, eventualmente, pueden desplegar mecanismos de biocontrol tales como resistencia inducida. Dos aislados bacterianos, *Pseudomonas fluorescens* PICF7 y *Pseudomonas putida* PICP2, colonizadores naturales de la rizosfera de olivo (*Olea europaea* L.) y anteriormente caracterizados como efectivos ACBs de la Verticilosis del olivo (VO), enfermedad causada por el hongo *Verticillium dahliae* Kleb., se han utilizado para esclarecer cuáles son los mecanismos iniciales del proceso de colonización en raíces de plantas de olivo propagadas y cultivadas en un sistema *in vitro*. Los objetivos de esta investigación han sido: 1) identificar el lugar preferente de entrada de bacterias endofitas beneficiosas; 2) determinar la posible competencia entre cepas bacterianas en la colonización y penetración del tejido radical; 3) establecer la idoneidad de un sistema gnotobiotico para el estudio de la interacción *Pseudomonas* spp.-olivo. Derivados de las cepas PICF7 y PICP2 marcados con proteínas fluorescentes se han empleado, por separado o en conjunto, en ensayos de inoculación de raíces de plantas del cv. Manzanilla propagadas y cultivadas *in vitro*, y el proceso de colonización de raíces se ha seguido mediante microscopia confocal. Se ha determinado que, en las condiciones experimentales empleadas, los pelos radicales son las células elegidas preferentemente por ambas cepas de *Pseudomonas* para penetrar en la raíz de olivo, confirmando los resultados obtenidos anteriormente en bioensayos de colonización con plantones 'Arbequina' provenientes de viveros. Además, elucidar los mecanismos moleculares implicados en la colonización del tejido radical de olivo por parte de dichas cepas de *Pseudomonas* spp. es imprescindible para desarrollar estrategias eficaces de biocontrol de la VO. Con este objetivo se han generado por separado dos genotecas substractivas de raíces de olivo inoculadas con la cepa PICF7, utilizando plantas 'Manzanilla' cultivadas *in vitro* o plantas de 3 meses del cv. Arbequina procedentes de vivero. Se presentarán resultados preliminares obtenidos del análisis de genes inducidos (raíces inoculadas frente a no inoculadas) durante el proceso de colonización de raíces de olivo por este ACB.

SIM-27

FACTORES QUE AFECTAN A LOS ENSAYOS DE PATOGENICIDAD Y FUNGICIDAS DE PODA EN SARMIENTO DE VID EN EL CAMPO

Muruamendiaraz, A.¹, Luque, J.², Legorburu, F.J.¹

¹ Dpto. Producción y Protección Vegetal, NEIKER-Tecnalia, Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46, 01080 Vitoria/Gasteiz. E-mail: amuruamendiaraz@neiker.net; jlegorburu@neiker.net

² Dpto. Patología Vegetal, IRTA, Centro de Cabrils. Ctra. de Cabrils km 2, 08348 Cabrils. E-mail: jordi.luque@irta.cat

Los ensayos de patogenicidad son fundamentales en el trabajo fitopatológico. En el caso de las enfermedades de madera de la vid, se suelen inocular los posibles agentes etiológicos en sarmiento durmiente, bien en campo o en invernadero, y 1) se mide la longitud de las necrosis obtenidas, y 2) se registran las frecuencias de reaslamiento. Cuando se ensayan desinfectantes de poda, se utiliza este mismo modelo experimental.

Ya que los resultados que se obtienen suelen diferir de un laboratorio a otro, se diseñó un experimento factorial en el que se inocularon varios hongos, en forma de micelio sobre los cortes de poda, en sarmientos durmientes de vid en el campo. El ensayo se llevó a cabo los inviernos 2007-2008 y 2008-2009, tanto en Rioja Alavesa como en Penedés. Simultáneamente, se ensayaron varios fungicidas, aplicados con un día de antelación.

La longitud de la necrosis resultó ser muy dependiente de los factores «Año» y «Zona vitícola», lo que indica una influencia muy fuerte del medio ambiente y una baja reproducibilidad. En conjunto, *Phaeomoniella chlamydospora* y *Eutypa lata* produjeron necrosis más largas que *Diplodia seriata*. Entre los fungicidas, sólo el metil tiofanato redujo las necrosis, mientras el cubiet y el tetraconazol las agravaban. Por el contrario, la frecuencia de reaslamiento resultó mucho más consistente. «Año» y «Zona vitícola» quedaron por debajo de la significación estadística, mientras las diferencias entre «Hongos» y «Fungicidas» resultaron significativas. *D. seriata* se reasló con mucha mayor frecuencia que *P. chlamydospora* y *E. lata*. Por otro lado, sólo el metil tiofanato dio un cierto control de *D. seriata*. Este fungicida controló también *E. lata*, mientras el cubiet sólo controló *P. chlamydospora*. La hidroxiquinolina controló ambos.

* Este trabajo fue cofinanciado por el proyecto INIA RTA2007-00023-C04 y fondos FEDER.

SIM-28

EFICACIA DE COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL EN EL CONTROL DE LA ANTRACNOSIS DE HOJA EN FRESA (*Fragaria x ananassa*)

Ortega, J.¹, de los Santos, B.¹, Corpas, J.L.², Soliveri, J.², Romero, F.¹

¹ Centro IFAPA Las Torres-Tomejil, Ctra Sevilla-Cazalla km 12,2 Alcalá del Río (Sevilla) C.P.: 41200. balbilis@hotmail.com

² Departamento de Microbiología, Universidad de Alcalá de Henares

La antracnosis es una importante enfermedad de la fresa cultivada (*Fragaria x ananassa* D.). Esta causada por diversas especies del género *Colletotrichum*. En Huelva se ha descrito a *Colletotrichum J.H. Simmonds* como el agente causal de la enfermedad. Muchas de las medidas de control utilizadas tienen una reducida eficacia, estando actualmente su uso cada vez mas restringido. Se hace pues, necesaria, la búsqueda de alternativas que sean capaces de coordinar la productividad con el respeto al medio ambiente y la salud humana. Entre estas alternativas se encuentran los extractos de plantas y productos de fermentaciones de ascomicetos los cuales han demostrado poseer cualidades interesantes: son sistémicos, no fitotóxicos, biodegradables y estimuladores del metabolismo del hospedador. Se han utilizado en este trabajo extracto de canela (EXCa), extracto de semilla de cítricos (EXCi), extracto de *Mimosa tenuiflora* (EXM), extracto de poda de olivo (EXO) así como una serie de liofilizados resultados de la fermentación de diversos sustratos por cepas de ascomicetos (LIOF 1-7). Los compuestos fueron aplicados foliarmente en plantas de fresa en condiciones controladas, previamente a la inoculación con el patógeno. Se determinó la eficacia en la reducción del índice de severidad de la enfermedad (DSI). Los compuestos EXO, EXCa, EXM y LIOF1 fueron utilizados para realizar un análisis de expresión génica mediante PCR cuantitativa para determinar la sobreexpresión del gen *cad* relacionado con el proceso de inducción de respuesta de defensa. Los compuestos testados redujeron de forma significativa, con respecto al control, el número lesiones y el diámetro de las mismas. Los tratamientos con EXM, LIOF1, LIOF4 y LIOF6 redujeron la severidad de la enfermedad a valores que no difieren de forma significativa de los obtenidos en plantas inoculadas (control REI). En el análisis de expresión génica se observó un incremento en la expresión del gen *cad*, a tiempo de 14 días, en las plantas elicitadas con EXCa, mientras que no se observó en las plantas inoculadas no tratadas.

SIM-29**EVALUACIÓN DEL PRODUCTO BIOESTIMULADOR TRONVER ECO®
EN EL CONTROL DE HONGOS DE SUELO (OOMICETOS
Y DEUTEROMICETOS)**

Barriuso Vargas, J.¹, Tercero Ruiz, Z.¹, Sánchez Durán, S.²

¹ Escuela Politécnica Superior, Univ. de Zaragoza. Carretera de Cuarte s/n, C.P. 22071, Huesca. e-mail: zoila_1983@hotmail.com; barriuso@unizar.es

² CITA, Gobierno de Aragón, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. e-mail ssanchezd@aragon.es

En ocasiones, los agricultores tienen dificultades para conseguir productos fitosanitarios eficaces para el control de algunas enfermedades producidas por hongos de suelo y vasculares. Por este motivo, se han realizado diversos ensayos «in vitro» encaminados a comprobar la eficacia del producto bioestimulador Tronver Eco® a diferentes concentraciones frente a las siguientes especies: *Fusarium oxysporum* (vascular), *Verticillium dahliae* cepas defoliante y no defoliante (vascular), *Phytophthora capsici* (radicular y de cuello), *Rhizoctonia solani* y su forma teleomorfa *Thanatephorus cucumeris* (radicular y de cuello), *Pythium ultimum* (radicular y de cuello) y *Sclerotinia sclerotiorum*. Del mismo modo, se realizaron los mismos ensayos «in vitro» sobre dos cepas seleccionadas de *Trichoderma harzianum* (T5 y T20), deuteromiceto utilizado y comercializado para el control biológico de una gran cantidad de hongos patógenos, sobre los cuales *Trichoderma harzianum* tiene poder antagonista. Además, se han realizado ensayos de antagonismo entre todos los patógenos y las dos cepas de *Trichoderma harzianum*.

Se ha observado que ambas cepas T5 y T20, de *T.harzianum* se mostraron igualmente efectivas en el control de los hongos objeto del estudio con capacidad antagónica respecto a la inhibición a distancia (zona de inhibición y porcentaje de inhibición sobre el control) como en contacto (micoparasitismo). Así mismo, se ha observado que el crecimiento «in vitro» en medio de cultivo no selectivo de los hongos patógenos y en presencia del bioestimulador Tronver Eco®, se modificaba apareciendo diferencias estadísticamente significativas y siendo generalmente menor el crecimiento conforme se aumentaba la concentración de dicho bioestimulador en el medio de cultivo. Estos resultados no resultaron con diferencias estadísticas en el caso de *Sclerotinia sclerotiorum*.

SIM-30

AISLAMIENTO DE HONGOS PATÓGENOS DE LA VARIEDAD ROJO BRILLANTE DE CAQUI (*Diospyros kaki*) Y SU RESPUESTA FRENTE A LA PRESENCIA DE TRONVER ECO®

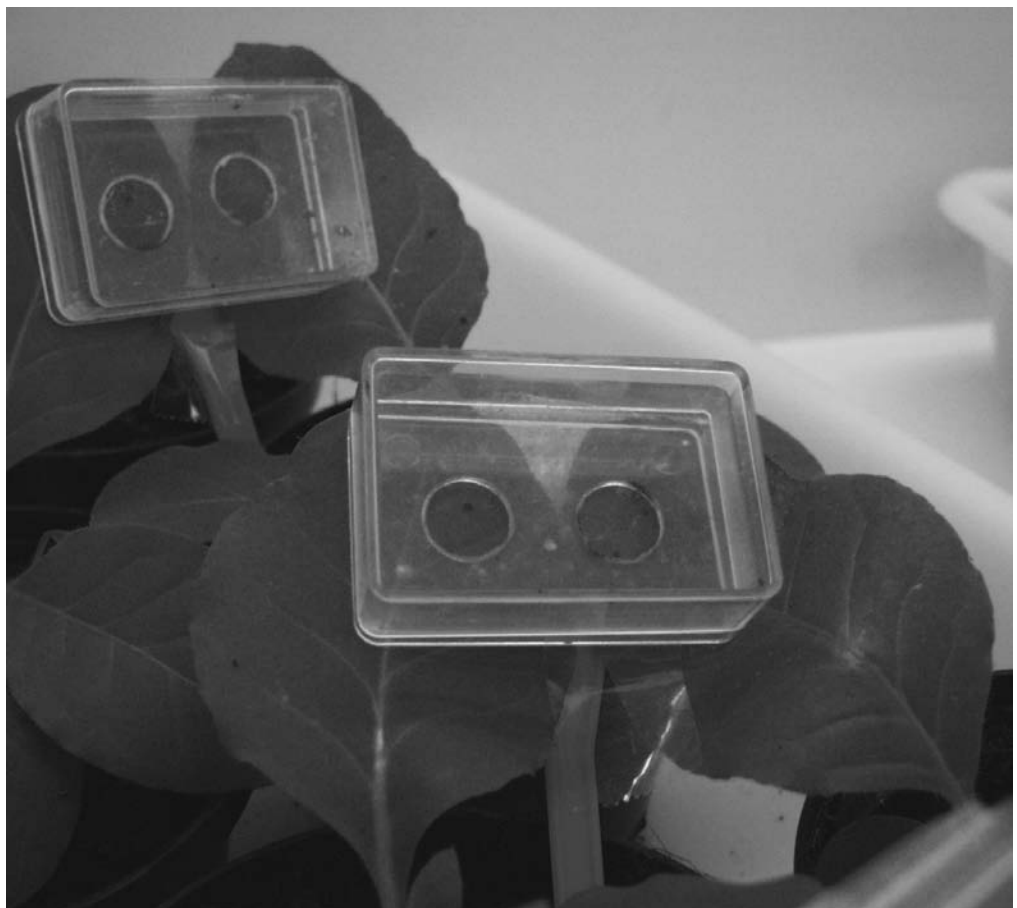
Tercero Ruiz, Z.¹, Barriuso Vargas, J.¹, Sánchez Durán, S.²

¹ Escuela Politécnica Superior, Univ. de Zaragoza. Carretera de Cuarte s/n, C.P. 22071, Huesca. E-mail: zoila_1983@hotmail.com; barriuso@unizar.es

² CITA, Gobierno de Aragón, Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. E-mail ssanchezd@aragon.es

Se partió de hojas de caqui (*Dyospiros kaki*) de la variedad Rojo Brillante de una plantación de 7 años localizada en la zona de L'Alcudia (Valencia) con daños claramente visibles en forma de círculos concéntricos por toda la hoja, al igual que en los frutos. Se tomaron muestras y se realizaron cultivos de pequeños fragmentos de hojas para aislar e identificar el hongo u hongos causantes de dichos daños. Al cabo de unos días en estufa a oscuridad a 25 °C, se empezaron a reaislar bien por estría o bien por repicado todas las colonias de los distintos hongos desarrolladas en las placas de cultivo con PDA más antibióticos. De esta forma, se obtuvieron once aislados distintos en cultivo puro de los cuales se realizaron crecimientos «*in vitro*» en tres medios de cultivo diferentes: control, y con dos distintas concentraciones del producto bioestimulador Tronver Eco® de entre los cuales se identificó *Cercospora* spp. (anamorfo de *Mycosphaerella* spp.) como causante de los daños encontrados. Se observó que el uso del producto Tronver Eco® a las dosis estudiadas, equivalentes a la mínima y máxima recomendadas producía una inhibición casi total del crecimiento colonial «*in vitro*», por lo que se puede considerar que los tratamientos preventivos y continuados de este producto podrían llegar a ser efectivos en cultivo al aire libre. Para el resto de hongos aislados se observó un comportamiento similar al de *Cercospora* spp. por lo que igualmente el uso del bioestimulador podría ser igualmente efectivo para oportunistas asociados a *Cercospora* spp. y que produzcan podredumbres en postcosecha en cámara y almacenamiento. A partir de aquí se citan una serie de recomendaciones para controlar el ataque de estos hongos patógenos.

**SESIÓN PLENARIA II:
EPIDEMIOLOGÍA**



PLE-31

**TELEDETECCIÓN DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO
MEDIANTE IMAGEN TÉRMICA DE ALTA RESOLUCIÓN
CON VEHÍCULOS AÉREOS NO TRIPULADOS**

Lucena, C.¹, Berni, J.A.J.², Montes-Borrego, M.¹, Trapero-Casas, J.L.¹, Landa, B.B.¹, Zarco-Tejada, P.², y Navas-Cortés, J.A.¹

¹ Dep. Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Aptado. 4084, 14080 Córdoba;

² Laboratorio Quantalab, IAS-CSIC. Email: jnavas@ias.csic.es

El conocimiento de los patrones de distribución espacio-temporal y de dispersión de las enfermedades en cultivos proporciona una valiosa herramienta para el diseño de estrategias eficientes para su manejo. Esta información puede ser particularmente relevante para la Verticilosis del olivo causada por el hongo de suelo *Verticillium dahliae*, que en la última década se ha convertido en el principal factor limitante de este cultivo en el Sur de España, por su rápida y extensa propagación, en particular del patotipo defoliante (D) altamente virulento. Los recientes avances en la tecnología de sensores ópticos han permitido la detección de plantas enfermas incluso en estadios previos a la aparición de síntomas. El objetivo de este trabajo fue determinar si la imagen térmica de alta resolución podría ser utilizada para la detección, cuantificación y monitorización de la Verticilosis en olivo.

El estudio se llevó a cabo en dos olivares comerciales de 7 ha, con cultivo intensivo de olivo situadas en las provincias de Córdoba (cv. Picual, 10 años de edad) y Sevilla (cv. Arbequina, 3 años de edad) en 2009. En cada uno de ellos se tomaron imágenes térmicas de alta resolución en la región espectral de 8 a 14 μm y 25 cm de resolución espacial, mediante una cámara a bordo de un vehículo aéreo no tripulado. Además, mediante evaluación *in situ*, se determinó la incidencia y severidad de síntomas de Verticilosis para cada árbol en Mayo y Julio de 2009, así como la incidencia de infección asintomática y el patotipo de *V. dahliae* mediante PCR específicas en un área seleccionada *ad hoc*. Los resultados indicaron que en ambos olivares, los árboles afectados por Verticilosis mostraron una distribución agregada no aleatoria. Con la aparición de diversos focos de tamaño variable con árboles infectados a lo largo de la plantación. El patrón de distribución de severidad en árboles enfermos estuvo correlacionado positiva y espacialmente con la temperatura de la copa del árbol. Además, la temperatura media de la copa se incrementó con el de la severidad de enfermedad, con un incremento de hasta 4 °C en comparación con la de árboles sin síntomas. Los árboles infectados asintomáticos tuvieron una temperatura de copa ligeramente superior a la de árboles no infectados. Los resultados indican la capacidad de la imagen térmica de alta resolución, para la detección, cuantificación y monitorización de la Verticilosis del olivo en plantaciones comerciales.

* Investigación financiada por P08-AGR-03528 y AGL2009-13105-C03-01.

PLE-32

**ANÁLISIS DE LA DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE LONGIDÓRIDOS
Y DE *Grapevine fanleaf virus* EN UN VIÑEDO DE ANDALUCÍA**

Gutiérrez-Gutiérrez, C.¹, Castillo, P.¹, Navas-Castillo, J.², Teixeira Santos, M.³, Landa, B.B.¹ y Navas-Cortés, J.A.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Apdo. 4084, 14080 Córdoba; ² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora» (IHSM-UMA-CSIC), Algarrobo-Costa (Málaga); ³ Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB-IP), 2784-505 Oeiras, Portugal. E-mail: jnavas@ias.csic.es.

Los cultivos de vid infectados por grapevine fanleaf virus (GFLV) muestran una distribución en rodales debido a que la transmisión del virus tiene lugar entre plantas adyacentes por el nematodo vector *Xiphinema index*. Hasta la fecha, existen pocos estudios que hayan correlacionado la incidencia y severidad de la enfermedad con la densidad de población y distribución espacial de *X. index*. El objetivo de este trabajo fue determinar los patrones de distribución espacial de nematodos longidóridos (particularmente *X. index*) y GFLV en la D.O. Montilla-Moriles. Para ello, se seleccionó un viñedo comercial naturalmente infestado por ambos patógenos de 3,600 m² (800 plantas) seleccionada *ad hoc* después de constatar la presencia de ambos agentes. Se evaluó la incidencia de infección por GFLV mediante ELISA-DAS y RT-PCR, así como la densidad de nematodos longidóridos en cada una de 200 subparcelas de 4 x 4 m, así como su patrón de distribución y de asociación espacial mediante análisis de índices de distancia (SADIE).

Los resultados indicaron un 25% de incidencia de plantas de vid infectadas por GFLV, así como la infestación del viñedo por cuatro especies de longidóridos con una incidencia decreciente de: *X. pachtaicum* 92,5%, *X. index* 86,0%, *Longidorus magnus* 7,5%, y *X. turcicum* 0,06%. Asimismo, los resultados del análisis espacial indicaron una distribución agregada tanto de las plantas infectadas por GFLV como para la densidad de población de las tres especies de nematodos más abundantes. Asimismo, la distribución espacial de plantas infectadas por GFLV y la densidad de población de *X. index* estuvo asociada espacialmente. En cambio, no existió asociación espacial con las otras dos especies más abundantes, *X. pachtaicum* y *L. magnus*. Se estimaron seis y ocho focos principales de plantas infectadas por GFLV y de infestación por *X. index* que ocuparon el 14,5 y 12,0% de la superficie de la parcela, respectivamente. La información generada en este trabajo ha permitido una mejor comprensión de los patrones de distribución de plantas de vid infectadas por GFLV y su vector, que ha de ser considerada en el diseño de procesos de muestreo y el desarrollo de estrategias que permitan un control integrado y eficiente de ambos patógenos.

*Investigaciones subvencionadas por: P06-AGR-01360.

PLE-33

ORIGEN Y EVOLUCIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE EN ESPAÑA

Moreno, M.G.¹; Pagán, I.²; Fraile, A.¹ y García-Arenal, F.¹

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas UPM-INIA y ETSI Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Campus Montegancedo, Pozuelo de Alarcón, Madrid.

² Center for Infectious Disease Dynamics, Department of Biology. The Pennsylvania State University, Mueller Laboratory, University Park, PA 16802. USA.

El virus del mosaico del pepino dulce *Pepino mosaic virus* (PepMV), perteneciente al género potexvirus, es uno de los principales factores limitantes de la producción de tomate en Europa y América, ya que afecta al rendimiento, la calidad y la comercialización del cultivo. Desde que en 1974 fuera descrito por primera vez infectando plantas de pepino dulce (*Solanum muricatum*) en Perú, se han caracterizado cuatro cepas: la cepa original de Perú (PE), y las cepas europea (EU), americana (US1) y chilena (CH2), que presentan una homología de la secuencia de nucleótidos con el aislado peruano del 95%, 82% y 79%, respectivamente.

En España, PepMV fue detectado por primera vez en 1999, causando graves epidemias en cultivos de tomate en invernadero. Hasta 2004 la mayoría de los aislados caracterizados pertenecían a la cepa EU, pero en años posteriores la prevalencia de aislados CH2 ha ido en aumento, lo que sugiere un cambio en la estructura genética de la población de PepMV, y subraya el peligro de introducción de nuevas cepas.

Para evaluar esta posibilidad, y con el fin de determinar el origen de la diversidad genética de PepMV se ha estudiado la estructura genética de la población del virus en Perú, que ha sido propuesto como centro de diversificación de la especie. Para ello, se realizaron muestreos en diferentes poblaciones silvestres de especies del género *Solanum* en el centro y sur del país. El análisis filogenético utilizando el gen de la CP mostró que los aislados obtenidos en dichos muestreos forman un nuevo grupo que ha sido denominado *chilense* (LC). Estos resultados indican que la población peruana de PepMV es más diversa que la población en Europa, y sugieren que efectivamente Perú es un centro de diversificación de PepMV. Esta presencia de aislados nuevos en Perú, no descritos en Europa y el norte de América advierte sobre los posibles riesgos que pueden surgir en el cultivo de tomate si no se toman las medidas correspondientes y no se vigila su introducción. Se presenta la caracterización molecular y biológica de aislados de la nueva cepa LC.

PLE-34

**TRANSMISIÓN DE *Erwinia amylovora* MEDIANTE *Ceratitís capitata*,
LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA**

Ordax, M.¹, Piquer-Salcedo, J.E.¹, Sabater-Muñoz, B.¹, Biosca, E.G.², López, M.M.¹, Marco-Noales, E.¹.

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113, Moncada, Valencia. E-mail: ordax@ivia.es; piquer_jed@gva.es; bsabater@ivia.es; mlopez@ivia.es; emarco@ivia.es;

² Dpto. Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, 46100, Burjassot, Valencia. E-mail: elena.biosca@uv.es

La bacteria *Erwinia amylovora* es el agente causal del fuego bacteriano, grave enfermedad que afecta a frutales de gran interés comercial como manzano y peral, causando importantes pérdidas económicas. Este patógeno afecta generalmente a la fruta inmadura produciendo necrosis y/o exudados, pero ocasionalmente, también se ha detectado en fruta madura asintomática procedente de árboles muy afectados por la enfermedad. Además, se ha demostrado recientemente que *E. amylovora* puede sobrevivir en manzanas maduras asintomáticas adoptando el estado «viable no cultivable» (VNC) (Ordax *et al.*, 2009). Así pues, esta fruta podría actuar como reservorio y/o vehículo de diseminación del patógeno, pero para producir la enfermedad, la manzana madura debería entrar en contacto con insectos vectores y/o plantas susceptibles. Para investigar si la mosca de la fruta *Ceratitís capitata*, plaga polífaga y muy dañina en frutales, puede transmitir *E. amylovora* a partir de fruta madura, se realizaron ensayos *in vitro* con manzanas maduras asintomáticas inoculadas con 10^7 ufc del patógeno. Estas manzanas se pusieron en contacto durante 48h con las moscas de la fruta, habiéndose comprobado previamente que *E. amylovora* era capaz de sobrevivir en este insecto. Posteriormente, las moscas supuestamente contaminadas con la bacteria se capturaron y se pusieron en contacto con material vegetal sano (manzanas maduras o brotes de peral). Se demostró que *C. capitata* fue capaz de adquirir *E. amylovora* a partir de manzanas contaminadas asintomáticas y de transmitirla a otras manzanas maduras sin provocar síntomas. Además, incluso una única mosca pudo transmitir el patógeno a las manzanas en sólo 5 días, tanto a la piel como a la pulpa (10^6 - 10^3 ufc, respectivamente). *C. capitata* también fue capaz de transmitir *E. amylovora* a brotes de peral, que desarrollaron necrosis en las hojas tras 5-7 días en contacto con las moscas contaminadas. En todos los casos se recuperó la bacteria en el medio semiselectivo CCT (10^5 - 10^7 ufc/necrosis). Por tanto, estos resultados demuestran, por primera vez, el potencial de *C. capitata* como un vector eficaz del patógeno *E. amylovora*.

PLE-35

ADAPTABILIDAD CLIMÁTICA Y ANÁLISIS DE RIESGOS DE NUEVAS ENFERMEDADES. ESTUDIO PARTICULAR DE LA MANCHA FOLIAR DEL KAKI CAUSADA POR *Mycosphaerella nawae*

Vicent, A.¹, Makowski, D.²

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Apdo. Oficial, Moncada 46113, Valencia. E-mail: avicent@ivia.es

² INRA, AgroParisTech, UMR 211, F-78850 Thiverval Grignon (Francia). E-mail: makowski@grignon.inra.fr

Según establecen el Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (OMC) y la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (IPPC/FAO), las medidas legislativas establecidas para impedir la introducción de nuevas enfermedades deben estar justificadas mediante un análisis de riesgos.

Tanto la IPPC como la EPPO han desarrollado procedimientos estandarizados para los análisis de riesgos. Una de las fases clave de estos protocolos es la evaluación de la adaptabilidad del patógeno al clima de la zona de estudio. Habitualmente, las evaluaciones de adaptabilidad se han realizado mediante comparaciones de series históricas de temperatura y pluviometría basadas en la distribución geográfica de la enfermedad. En condiciones de clima semi-árido, la pluviometría puede no ser un indicador adecuado del nivel de humectación de los árboles. Por otra parte, este tipo de comparaciones asume que la ausencia de la enfermedad en una zona se debe exclusivamente a limitaciones climáticas, sin tener en cuenta la presencia del patógeno.

Con el objetivo de implementar metodologías más fiables, se contrastó la capacidad predictiva de un modelo genérico de infección estimado mediante estadística bayesiana, respecto a un análisis de comparación climática basado en la distribución de la enfermedad. Se utilizó como ejemplo de cálculo la mancha foliar causada por *Mycosphaerella nawae*, enfermedad del kaki detectada recientemente en España.

El análisis de comparación climática basado en la distribución geográfica de la enfermedad no fue capaz de predecir el establecimiento de *M. nawae* en nuestras zonas de cultivo. Aunque con un cierto grado de incertidumbre, el modelo de infección presentó una adecuada capacidad predictiva. Esta metodología supone una alternativa para las evaluaciones de adaptabilidad climática en los análisis de riesgos de nuevas enfermedades.

PLE-36

MODELIZACIÓN DE LA PODREDUMBRE PARDA DEL MELOCOTONERO CAUSADO POR *Monilinia* spp.

Segarra, J.¹, Villarino, M.², Usall, J.³, Melgarejo, P.², Lamarca, N.³, De Cal, A.²

¹ Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal, Universidad de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida. E-mail: segarra@pvcf.udl.cat

² Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña km 7, 28040 Madrid.

³ Unidad de Postcosecha-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida. E-mail: Josep.usall@irta.cat

La podredumbre parda causada por *Monilinia* spp. es la enfermedad más importante del melocotonero y nectarino en el Valle del Ebro. Para controlar la enfermedad se aplican tratamientos fungicidas sistemáticos a lo largo de todo el período de cultivo. Sin embargo, en años con condiciones climáticas favorables para el desarrollo de la enfermedad, en variedades susceptibles, se puede llegar a perder toda la cosecha.

Desde el año 2006 se estudia en diferentes huertos comerciales del Valle del Ebro la dinámica de la enfermedad, la cantidad de inóculo aéreo, la incidencia de las infecciones latentes y las fuentes de inóculo. Para integrar todo este conjunto de información se formula un modelo de la podredumbre parda del melocotonero que sea preciso, transparente y flexible y que ayude a comprender la complejidad de dicho patosistema.

El modelo representa la dinámica de la enfermedad en una parcela de melocotonero durante una estación de cultivo. Se asume que las poblaciones del cultivo y del patógeno son homogéneas y no se incluyen variables climáticas. Se considera que el individuo de la población cultivo es el melocotón que a lo largo de su ciclo pasa por tres estados fisiológicos flores, frutos verdes y frutos maduros con distintas características epidemiológicas. Los individuos de la población cultivo se clasifican en Susceptibles, Latentes, Infecciosos y Muertos. La enfermedad se transmite mediante infecciones primarias y secundarias. Con la maduración del fruto las infecciones latentes en los frutos verdes se activan a una tasa constante. La simulación del modelo se ajusta bien al patrón epidémico observado en el Valle del Ebro. La incidencia de las flores marchitas es muy baja, el primer fruto podrido en el árbol aparece de 3 a 5 semanas antes de la recolección, momento a partir del cual la epidemia crece de forma exponencial. Con el modelo se simula la eficacia de distintas medidas de control. El análisis de sensibilidad de los parámetros del modelo pone de manifiesto que la tasa de infección secundaria de los frutos maduros es un parámetro crítico de la incidencia final de la podredumbre.

**SESIÓN SIMULTÁNEA V:
PATOGENESIS Y
RESISTENCIA 2**



SIM-37

**APLICACIÓN DE LA MICROSCOPIA LÁSER CONFOCAL
Y LA PCR CUANTITATIVA AL CONOCIMIENTO DE LAS INTERACCIONES
COMPATIBLES/INCOMPATIBLES EN EL PATOSISTEMA *Fusarium
oxysporum* f. sp *ciceris* / GARBANZO**

Jiménez-Fernández, D.², Montes-Borrego, M.¹, Jiménez-Díaz, R.M.^{1,2}, Landa, B.B.¹, Navas-Cortés, J.A.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apdo. 4084, 14080 Córdoba

² ETSIAM, Universidad de Córdoba. C4, Campus Rabanales, 14071, Córdoba.
E-mail: blanca.landa@ias.csic.es

Este trabajo ha perseguido profundizar en el conocimiento del proceso de infección y colonización de garbanzo por *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (*Foc*) en interacciones compatibles e incompatibles mediante microscopía láser confocal (MC) y la PCR cuantitativa (qPCR). Para ello, se utilizaron cultivares de garbanzo (P2245, JG-62 y WR-315) que difieren en resistencia o susceptibilidad a las razas de *Foc* de las razas 0 y 1B/C (síndrome de amarillez) y 5 (síndrome de marchitez) representativas de los extremos de virulencia descritos en el patógeno, y aislados de ellas transformados con la proteína verde fluorescente ZsGreen. Las distintas combinaciones compatibles e incompatibles se establecieron en ensayos in planta en condiciones óptimas para el desarrollo de Fusariosis Vascular (FV). Las observaciones de plántulas con MC indican que el meristemo del ápice radical constituye la región preferente de penetración del patógeno tanto en combinaciones compatibles como incompatibles. Asimismo, la respuesta susceptible o resistente de un determinado cultivar de garbanzo a una raza de *Foc* estuvo correlacionada con la localización del hongo en los distintos órganos de la planta (tejido radical y/o tallo) y el número e intensidad de colonización de los vasos xilemáticos invadidos por aquél. En la interacción más compatible (Raza 5/P-2245) la colonización del ápice radical se inicia 1 día después de la inoculación (ddi) y 2 días más tarde tiene lugar la del córtex de la parte inferior de la raíz, cuya colonización extensa e invasión de los vasos del xilema del hipocotilo ocurre a los 8 ddi, para finalmente colonizar extensamente el xilema en epicotilo y tallo a partir de los 10 ddi. En la interacción incompatible (Raza 5/WR-315) se observó colonización del córtex en toda la longitud de la raíz y de los vasos del xilema en la parte inferior de ésta a partir de 10 ddi, pero en ningún caso se observó en el epicotilo ni en la parte aérea de la planta. Los ensayos de qPCR confirmaron los resultados de MC, e indicaron que el incremento de la colonización del patógeno del tejido radical y el tallo está asociado con un incremento de la cantidad de ADN de *Foc* y el nivel de síntomas de FV. Este incremento está además correlacionado con la virulencia de la raza de *Foc* y la susceptibilidad del cultivar, siendo hasta 100x el ADN en las combinaciones con la raza más virulenta y hasta 10x en el tallo respecto del detectado en la raíz. En interacciones incompatibles entre WR315 con todas las razas y JG62/raza 0, el ADN de *Foc* se pudo cuantificar en la raíz pero no en el tallo.

SIM-38

**EFFECTO DE LA DEFOLIACIÓN PROVOCADA POR
Mycosphaerella spp. EN EL CRECIMIENTO Y EN LA SUPERVIVENCIA
DE *Eucalyptus globulus* EN URUGUAY**

Balmelli, G.¹, Simeto, S.¹, Altier, N.¹, Marroni, V.², Diez, J.J.³

¹ Programa Nacional Forestal. INIA-Uruguay. Ruta 5, Km 386, Tacuarembó, Uruguay. E-mail: gbalmelli@tb.inia.org.uy

² Plant and Food Research. Private Bag 92169. Auckland Mail Centre. Auckland 1142, New Zealand

³ Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. Universidad de Valladolid. Avda. de Madrid, s/n-34071, Palencia

Eucalyptus globulus es la principal especie forestal en Uruguay, existiendo en la actualidad más de 300 mil hectáreas de plantaciones comerciales. Si bien la susceptibilidad a enfermedades que presenta esta especie constituye su principal limitación productiva, las pérdidas provocadas por éstas aún no han sido adecuadamente cuantificadas. El presente trabajo analiza el efecto de diferentes niveles de daño foliar, provocados durante el primer año por *Mycosphaerella* spp., sobre la mortalidad y sobre el crecimiento diamétrico hasta el séptimo año. El estudio se realizó en una prueba de progenies en la cual, a los 8 meses de instalada, se cuantificó el nivel de defoliación y al tercer, quinto y séptimo año se evaluó la supervivencia y el crecimiento en diámetro. Los resultados indican que defoliaciones de hasta 35% no afectan el crecimiento posterior en diámetro, mientras que la supervivencia se ve afectada cuando la defoliación supera el 55%. Sin embargo, con defoliaciones severas (superiores a 75%) el crecimiento se reduce de forma importante (hasta un 33,5% en diámetro al tercer año) y la supervivencia se ve comprometida (la mortalidad promedio llega al 47,5%). Para cuantificar el efecto de la defoliación temprana sobre el comportamiento productivo a diferentes edades se reagruparon los árboles según hubieran sufrido daños leves (defoliación menor o igual a 35%) o daños severos (defoliación mayor o igual a 45%) y se comparó la evolución de la supervivencia y del crecimiento en diámetro de ambos grupos hasta el séptimo año. Si bien se comprobó que el mayor efecto de la defoliación sobre la mortalidad ocurre en los tres primeros años, las diferencias entre el grupo de árboles con baja y alta defoliación continúa aumentando hasta el séptimo año, alcanzando valores de supervivencia promedio de 71,5 y 55,7%, respectivamente. Desde el punto de vista del crecimiento, los árboles con defoliación severa tuvieron, respecto al grupo de baja defoliación, una reducción promedio en diámetro de 19,1% al tercer año, de 12,9% al quinto año y de 12,0% al séptimo año, indicando que el efecto de la defoliación sobre el crecimiento también es mayor en los primeros años. Se concluye que si bien durante el primer año los árboles toleran niveles relativamente importantes de daño foliar, defoliaciones severas afectan tanto el crecimiento como la supervivencia posterior.

SIM-39**SUSCEPTIBILIDAD-TOLERANCIA EN EL PATOSISTEMA *Fusarium oxysporum* f. sp. *canariensis* - PALMERA CANARIA**

Santos, E.; Hernández, J.M.

Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Dpto. de Protección Vegetal. Apdo. 60. La Laguna, Tenerife. Canarias

La palmera canaria es una de las arecáceas más cultivadas. La fusariosis vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *canariensis* (FOC) está presente en muchas regiones del mundo. En Canarias se ha observado un incremento de la enfermedad en los últimos años, hasta ahora sólo en parques y jardines, nunca en palmerales naturales. Las poblaciones de FOC presentan en las islas una moderada diversidad genética con 4 VCGs, uno de los cuales se corresponde con el VCG 0240 de distribución mundial, muy extendido en el mediterráneo español, y otro, con aislados presentes en California.

Para conocer la patogenicidad de los aislados se han hecho pruebas utilizando semillas procedentes de 6 palmerales naturales de la isla de Tenerife. Se eligieron entre 2 y 20 plantas/palmeral y unas 50-200 semillas/planta/palmeral. La germinación se hizo en bandejas multialveolo. Parte de las plántulas fueron trasplantadas a macetas de mayor volumen. Como inóculo se usaron suspensiones de 10^6 esporas/ml a partir de cultivos líquidos de 7 días en caldo de patata en agitación de 1-2 aislados representativos de cada VCG. Las inoculaciones se hicieron añadiendo al sustrato entre 50-100 ml del inóculo previo corte de las raíces sin arrancar la planta. Como se han realizado a lo largo de unos 2 años, las plantas tenían diferentes edades y estados de desarrollo. Se siguió un diseño factorial con lo que las semillas de cada planta fueron inoculadas con aislados representativos de los 4 VCGs.

La expresión de los síntomas típicos se observó a los 3-4 meses después de la inoculación, independientemente del estado de desarrollo y de la edad fisiológica real. En general, analizando conjuntamente la respuesta a los 4 VCGs, las semillas de cada planta presentaron segregaciones mendelianas 3:1 ó 1:1 para tolerancia: susceptibilidad, lo que sugiere que la tolerancia está controlada por un gen mayor dominante como ocurre en otros patosistemas vasculares. Se requieren más estudios para confirmar estos resultados sobre control génico y para determinar si existe respuesta diferencial frente a cada uno de los VCGs.

SIM-40

**IMPLICACIONES DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO
EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA DE MANZANAS INFECTADAS
POR *Penicillium expansum***

Torres, R.¹, Valentines, C.¹, Teixidó, N.¹, Usall, J.¹, Larrigaudière, C.¹, Viñas, I.²

¹ IRTA. Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA. av Rovira Roure 191, 25198 Lleida. Email: rosario.torres@irta.cat

² Universitat de Lleida. Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA. av Rovira Roure 191, 25198 Lleida

Diversos estudios sobre las interacciones planta-patógenos en diferentes patosistemas indican que un papel crucial en la defensa del hospedador frente al ataque del patógeno se puede atribuir a una rápida y masiva generación de especies activas de oxígeno. Dicha respuesta se produce en un breve espacio de tiempo tras la infección e incluye la producción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2), entre otras especies activas de oxígeno. A pesar de la importancia del H_2O_2 en la defensa de las plantas, existen pocos estudios de su papel en las interacciones fruta-patógeno. En este trabajo se estudió el papel del H_2O_2 en manzanas infectadas por el moho *Penicillium expansum*, uno de los principales patógenos de fruta de pepita y causante de importantes pérdidas económicas en postcosecha de estas frutas. Se estudió el efecto del estado de madurez de las manzanas y su respuesta frente al patógeno, en relación al metabolismo antioxidante y la producción de H_2O_2 de la fruta, evaluando la actividad enzimática en el tejido vegetal de enzimas como la catalasa y superóxido dismutasa entre otras. Además se evaluó el contenido de lignina en las manzanas y su correlación con la resistencia al patógeno, así como el papel de enzimas como la peroxidasa en estos mecanismos de defensa ligados a procesos de lignificación.

Nuestros resultados mostraron cambios metabólicos en enzimas del sistema antioxidante y en la producción del H_2O_2 en las manzanas, en función de si la infección se realizaba en frutos inmaduros o en frutos maduros, y si el patógeno lograba producir infección o no. Por otro lado, los resultados también mostraron correlación en el contenido de lignina de las manzanas y su resistencia a infecciones debidas a *P. expansum*.

SIM-41**DURABILIDAD DE LA RESISTENCIA A *Tylenchulus semipenetrans* DEL PATRÓN FORNER & ALCAIDE N.º 5 EN SITUACIÓN DE REPLANTE**

Verdejo-Lucas, S.¹, Sorribas, F. J.³, Pastor, J.², Ornat, C.³, Cortada, L.¹

¹ IRTA. Patología Vegetal. Crta. de Cabrils km 2, 08348 Cabrils, Barcelona

² IRTA. Estación Exp. del Ebro. Crta. de Balada km 1. 43870 Amposta

³ Dpto. d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia. Universitat Politècnica de Catalunya. Edifici ESAB, C/ Esteve Terradas, 8. 08860 Barcelona

Se evaluó el efecto de la fumigación del suelo sola o en combinación con un patrón resistente a *T. semipenetrans* en una parcela de replantación sobre las poblacionales del nematodo, el desarrollo de los árboles y la producción de mandarina Orogrande en un suelo infestado por el biotipo Mediterráneo del nematodo. El diseño experimental fue factorial 2 x 2 con seis repeticiones por tratamiento. Los factores fueron i) la fumigación del suelo, y ii) el patrón (resistente o susceptible). La fumigación se realizó con 1,3 dicloropropeno (600L/ha). Los patrones fueron Foral & Alcaide n. 5 (FA n.º 5) (resistente) y Citrange Carrizo (susceptible). Durante nueve años, se determinaron anualmente las densidades del nematodo en suelo y raíces, el volumen de copa y la producción (Kg/árbol). El nematodo no se detectó en las raíces de ninguno de los dos patrones en las parcelas fumigadas durante los tres primeros años, aunque apareció esporádicamente en alguna de las repeticiones. La combinación fumigación-patrón resistente retrasó la re-infestación del suelo respecto la combinación fumigación-patrón susceptible. En las parcelas no fumigadas, FA n.º 5 inhibía considerablemente la reproducción del nematodo en contraste con Citrange Carrizo. Al cabo de nueve años, la densidad de hembras en la raíces de FA n.º 5 (189 hembras/g raíz) era inferior al límite de tolerancia del Citrange Carrizo (287 hembras/g raíz), mientras que, en este patrón dicho límite se superó desde el cuarto año después de replantar la parcela y se mantuvo hasta el final del estudio (646 hembras/g raíz). Los árboles sobre FA n.º 5 tenían mayor volumen de copa que sobre Citrange Carrizo (10,3 cm³ frente a 7,48 cm³). La producción acumulada de Orogrande fue un 29% superior en los árboles injertados sobre FA n.º 5 que sobre Citrange Carrizo. Se concluye que la fumigación del suelo con 1,3 dicloropropeno es un método efectivo para el control del nematodo al menos durante tres años. El patrón, FA n.º 5 retenía la resistencia a *T. semipenetrans* después de nueve años de cultivo, y la variedad injertada sobre este patrón presentaba mayor desarrollo vegetativo y producción que sobre Citrange Carrizo en las condiciones del ensayo.

SIM-42

**LA TERMOSENSIBILIDAD DE LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS
DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO (PMMoV-I)
ESTÁ CONFERIDA POR EL DOMINIO HELICASA**

Tena, F., Serra-Yoldi, M.T., y García-Luque, I.

Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC). C/ Ramiro de Maeztu, 9.
28040 Madrid. E-mail: igarcia@cib.csic.es

Los tobamovirus, género al que pertenece el virus del moteado suave del pimiento (PMMoV), son virus de plantas de RNA de cadena sencilla de polaridad positiva. PMMoV posee un interés especial debido a que puede producir importantes pérdidas económicas en los cultivos de pimiento, siendo España uno de los principales productores de la Unión Europea.

En muchas ocasiones, los cultivos españoles pueden alcanzar temperaturas superiores a 25 °C, que en algunas especies virales se puede traducir en un incremento en la replicación y en el movimiento a través de la planta. Por ello, es importante conocer el efecto de la temperatura en el ciclo de infección viral, para así poder diseñar estrategias que inhiban su mecanismo de acción.

En el género *Capsicum* spp., la resistencia contra los tobamovirus está conferida por las series alélicas de los genes L¹-L⁴ manifestándose en forma de respuesta hipersensible. Los tobamovirus aislados de los cultivos de pimiento han sido agrupados en cinco patotipos según su agresividad patogénica con respecto a estos genes de resistencia. La resistencia conferida por el gen L³ es activa contra la mayoría de ellos, incluyendo la cepa española de PMMoV (PMMoV-S) que es la cepa tipo del patotipo P_{1,2}. Pero sin embargo, no es activa contra los virus incluidos en el patotipo P_{1,2,3} siendo su cepa tipo la cepa italiana de PMMoV y P_{1,2,3,4}.

Datos previos de nuestro laboratorio demostraron que la resistencia conferida por el gen L³ es inactiva a 32 °C, temperatura a la cual disminuye notablemente la acumulación viral de la cepa italiana con respecto a la cepa española. Realizando experimentos de acumulación viral a 32 °C, con los virus quimeras obtenidos y ambas cepas parentales hemos podido establecer que el dominio helicasa situado en la proteína 126K es el responsable de la termosensibilidad en la cepa italiana.

La cepa española prevalece durante más tiempo y con mayor incidencia en los cultivos españoles de pimiento que la cepa italiana, a pesar de su menor patogenicidad con respecto a los genes de resistencia del género *Capsicum*. Una de las razones de esta mayor prevalencia puede ser la termosensibilidad de la cepa italiana conferida en el dominio helicasa.

**SESIÓN SIMULTÁNEA VI:
ETIOLOGÍA Y
DIAGNÓSTICO 2 /
EPIDEMIOLOGÍA 2**



SIM-43

INCIDENCIA Y VARIABILIDAD DEL VIRUS DEL ENTRENUDO CORTO INFECCIOSO DE LA VID EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

Tur, E.L.¹, Bertolini, E.¹, Rubio, L.¹, García, J.², Martínez, A.², Giménez, J.², Yuste, A.³, Olmos, A.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada a Náquera km 5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: aolmos@ivia.es

² Instituto Tecnológico de Viticultura y Enología de la Generalitat Valenciana. Valentín García Tena 1, 46340 Requena, Valencia

³ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

La enfermedad del entrenudo corto infeccioso está causada por *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) perteneciente al género *Nepovirus* y es transmitido por el nematodo *Xiphinema index*. Este virus puede reducir la producción de uva hasta en un 80% afectando a la calidad de la fruta. Además, es responsable de una amplia gama de síntomas externos en hojas, sarmientos, racimos y raíces (Martelli y Savino, 1991). Para evaluar la prevalencia del entrenudo corto infeccioso en las regiones vitivinícolas de la Comunidad Valenciana, se realizaron prospecciones en distintas denominaciones de origen (D.O. Valencia y D.O. Utiel-Requena) y en zonas productoras de uva de mesa (D.O. Uva de mesa embolsada Vinalopó). El muestreo fue aleatorio en base al área de cultivo y las plantas seleccionadas se georeferenciaron y marcaron. La toma de muestras se realizó en dos estados fenológicos diferentes. En primavera se tomaron al menos cinco hojas alrededor de la planta y en invierno se tomó madera de poda. Los análisis se realizaron mediante PCR a tiempo real empleando la química TaqMan. La comparación de los resultados obtenidos en cada estado fenológico mostraron que la época de análisis recomendada es durante el periodo de crecimiento, puesto que el número cepas positivas fue sensiblemente mayor. La incidencia de GFLV resultó muy elevada, con valores superiores al 70% de infección en todas las D.O. Entre los aislados detectados se seleccionaron algunos representativos y se determinó una secuencia parcial del gen de la proteína de movimiento y otra del gen de la proteína de la cápsida. Estas secuencias se compararon con las secuencias equivalentes de aislados de Alemania, Francia, Hungría, Estados Unidos y Eslovenia. La identidad nucleotídica del gen de la proteína de movimiento entre los aislados españoles varió entre el 87,9% y el 90,0%, y la identidad nucleotídica del gen de la proteína de la cápsida varió entre 83,6% y el 90,9%. Estos resultados fueron similares a la identidad nucleotídica con los aislados de otros países.

SIM-44

**DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *Botrytis cinerea*, *Erysiphe necator*
Y *Plasmopara viticola* MEDIANTE PCR MULTIPLEX**

Huerga, V., Díez-Navajas, A.M.

Neiker-Tecnalia. Departamento de Producción y Protección Vegetal. Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz. E-mail: vhuerta@neiker.net, adiez@neiker.net

Las enfermedades fúngicas de la vid botritis, oidio y mildiu, provocadas por los microorganismos *Botrytis cinerea*, *Erysiphe necator* y *Plasmopara viticola*, respectivamente, constituyen tres de las más importantes que afectan a este cultivo y que ocasionan grandes pérdidas de producción y de calidad en la uva para vinificación. La detección temprana de las mismas evitaría la aplicación de numerosos tratamientos fitosanitarios contra estas enfermedades y contribuiría a la disminución del aporte de insumos innecesarios en el medio ambiente. Actualmente, en nuestro laboratorio esta tarea se realiza mediante la observación microscópica de trampas de captura de esporas por impacto colocadas en viñedo, lo que supone una tarea ardua y costosa en tiempo.

El presente estudio describe la puesta a punto de un método molecular de PCR multiplex que permite la detección e identificación simultánea de los tres patógenos de interés a partir de una misma muestra. Éste es un método sensible y específico y que requiere de menor tiempo que los métodos basados en la observación microscópica.

Los resultados mostraron que la utilización de bolas de vidrio para la rotura celular y liberación del ADN fue más eficiente y más rápida que los métodos tradicionales de extracción con fenol-cloroformo o con kits comerciales. El diseño de cebadores específicos fue esencial para asegurar la especificidad del método y evitar la aparición de falsos positivos.

La técnica permitió la identificación de *P. viticola* y *E. necator* en una misma reacción. Sin embargo, fue necesaria una segunda ronda de amplificación del hongo *B. cinerea* para permitir su identificación y visualización en los geles de agarosa. Así mismo, la adición de BSA en la mezcla de reacción permitió incrementar considerablemente la sensibilidad de la reacción. A pesar de ser un método no cuantitativo, pudimos comprobar que el límite de detección alcanzaba hasta 1 espora en todos los casos.

Esta metodología se presenta como una alternativa rápida y eficaz a la observación microscópica de trampas de captura de esporas colocadas en viñedo.

SIM-45

**VARIABILIDAD BIOLÓGICA Y ESTRUCTURA GENÉTICA
DE POBLACIONES ESPAÑOLAS DEL VIRUS DEL MOSAICO
DE LA ALFALFA**

Bergua, M., Luis-Arteaga, M., Escriu, F.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Av. de Montañana, 930. 50059 Zaragoza.

El virus del mosaico de la alfalfa (AMV, género *Alfamovirus*, familia *Bromoviridae*) se transmite por semilla en alfalfa, su principal huésped natural a través del cual se ha distribuido por todas las zonas productoras del mundo. AMV puede transmitirse por pulgones de forma no persistente a otros 150 huéspedes naturales, incluyendo algunos cultivos hortícolas importantes como pimiento y tomate. A pesar de sus altas posibilidades de dispersión, existen pocos datos sobre la variabilidad y epidemiología de AMV. Durante los últimos años nuestro grupo ha analizado la presencia de AMV en alfalfa y cultivos hortícolas, especialmente en zonas productoras de alfalfa (Valle del Ebro y Ampurdán). El virus se ha encontrado infectando todos los alfalfares, con incidencias que aumentaban con la edad del alfalfar, alcanzando frecuentemente el 100% a partir del tercer año. También se ha encontrado con cierta frecuencia infectando cultivos hortícolas, observándose en el año 2005 una epidemia local en tomate. Con el fin de entender mejor la epidemiología de AMV, se abordó el estudio de su variabilidad biológica y genética a partir de una colección de 60 aislados procedentes de alfalfa, pimiento, tomate, haba, borraja y especies arvenses. La diversidad genética se analizó en 4 regiones comprendidas en los genes P1, P2, MP y CP, indicando distinto grado de variabilidad y presión selectiva en cada una de ellas. Mientras en la región P2 los aislados no presentaron diferenciación filogenética, en las regiones P1, MP y CP se observaron dos grandes grupos filogenéticos, I y II, y en las regiones MP y CP el grupo II se subdividió en dos subgrupos. Esta clasificación determinó seis tipos genéticos distintos, tres de los cuales se podrían corresponder con tipos originados por reordenamiento y recombinación. También se observó evidencia de subdivisión atendiendo al origen geográfico de los aislados. Teniendo en cuenta las secuencias correspondientes del gen CP de 14 aislados extranjeros de AMV disponibles en la base de datos, nuestros resultados indican la existencia de un subgrupo dentro del grupo II formado exclusivamente por aislados españoles. La variabilidad biológica de 22 de los 60 aislados caracterizados se analizó por inoculación mecánica en una gama de 16 especies indicadoras. Los aislados mostraron diferentes reacciones en algunas especies, sin observarse correlación aparente entre su comportamiento biológico y su tipo genético.

SIM-46

**CARACTERIZACIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA
DE LA POBLACIÓN DE *Monilinia fructicola* EN EL VALLE DEL EBRO**

Villarino, M., Larena, I., Martínez, F., Melgarejo, P., y De Cal, A.

Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña km 7, 28040 Madrid

M. fructicola, patógeno incluido en la lista A2 de organismos de cuarentena en la zona EPPO, que causa la podredumbre parda del melocotonero, fue aislada por primera vez en Europa en 2001, en el sureste de Francia, posteriormente se encontró en la República Checa, España, Italia, Suiza y Alemania. La reciente introducción de esta especie en huertos del Valle del Ebro y la falta de estudios sobre este patógeno y su estructura genética, dificultan el manejo y control de la enfermedad.

Por ello se ha llevado a cabo un estudio poblacional mediante marcadores moleculares (ISSR) y morfológicos con 97 aislados españoles, franceses, americanos, australianos y neozelandeses. Se elaboró una matriz binaria con los datos generados por 6 cebadores ISRR (95,7% de polimorfismo) y se construyó un dendrograma mediante el método de agrupamiento UPGMA. El análisis de los polimorfismos obtenidos por ISSR revela altos niveles de diversidad genética dentro de cada población (81% de la diversidad total) y una ligera diferenciación entre subpoblaciones (19% de la diversidad total). La diferenciación entre subpoblaciones aún no siendo muy elevada es significativamente superior a la encontrada en las zonas indígenas de *M. fructicola*. El análisis de cluster mediante UPGMA diferencia los aislados de *M. fructicola* en 4 regiones geográficas de procedencia ($r=0,83$). La primera población que se separa corresponde a la de los aislados de otros continentes, mientras que los últimos en separarse son las poblaciones españolas. Por ello podemos suponer que las poblaciones de *M. fructicola* en el Valle del Ebro han evolucionado menos que en otras zonas del mundo, mientras que confirmamos que son poblaciones que se han introducido recientemente incluso después de las de Francia.

No hay una aparente relación entre el agrupamiento geográfico de los aislados de *M. fructicola* y sus características morfológicas, aunque los aislados españoles se siguen diferenciando del resto de los orígenes geográficos por sus características morfológicas.

El potencial evolutivo de *M. fructicola* en el Valle del Ebro es alto, lo que supone un importante riesgo para el cultivo del melocotón en esta zona y en el resto de las zonas de España. Se deben desarrollar programas de control de la enfermedad que vayan encaminados a reducir la diversidad genética de *M. fructicola* evitando la dispersión de la especie de unas áreas a otras; limitando la aparición de reproducción sexual, y sobre todo diversificando el uso de fungicidas para evitar la aparición de aislados resistentes.

SIM-47

DIFERENCIAS ENTRE LOS MECANISMOS DE TRANSMISIÓN POR PULGONES DE VIRUS NO PERSISTENTES Y SEMIPERSISTENTES

Moreno, A., Fernández, G. y Fereres, A.

Departamento de Protección Vegetal. Instituto de Ciencias Agrarias-Centro de Ciencias Medioambientales. CSIC. Serrano 115 Dpdo. 28006. Madrid. E-mail: amoreno@ccma.csic.es

La transmisión no circulativa de virus por pulgones pueden ser de dos tipos: no persistente y semipersistente. Los virus no persistentes, como el virus del mosaico del nabo (TuMV, *Potyvirus*), son retenidos en la cutícula del extremo distal del estilete, transmitiéndose mediante un proceso de ingestión-salivación, en el que la inoculación mediante salivación se asocia a la primera fase (II-1) de las pruebas intracelulares (pd) que el pulgón realiza en mesófilo y epidermis de la planta. En el caso de los virus semipersistentes, recientemente se ha demostrado que para el virus del mosaico de la coliflor (CaMV, *Caulimovirus*) también existe en la parte distal del estilete una estructura específica donde tiene lugar la retención. No obstante, no puede descartarse la existencia de un segundo receptor en el tracto digestivo del vector. En cuanto a la inoculación de CaMV, se sabe que tiene lugar en las sucesivas pd que el pulgón realiza en mesófilo y epidermis, desconociéndose el mecanismo específico que facilita la liberación viral. Mediante la técnica de gráficos de penetración eléctrica (EPG) se analizó qué subfase de la pd está relacionada con la inoculación de CaMV, comparando los resultados con los obtenidos con TuMV. Los experimentos fueron realizados sobre nabo (*Brassica rapa* cv. «Just Right») usando *Brevycorine brassicae* L. como vector y empleando como fuente de virus plantas infectadas con CaMV o TuMV en infección simple o con ambos en infección mixta. Los resultados muestran como CaMV no es inoculado durante la fase II-1 de la pd, hasta el momento única subfase asociada a la salivación intracelular. Sin embargo, cuando el pulgón realiza la segunda de las subfases de la pd (II-2), CaMV es inoculado sin existir diferencias significativas con la inoculación obtenida al realizar una pd completa (II-1+II-2+II-3). Además, se comparó la duración de cada una de las subfases de la pd realizadas por pulgones transmisores del virus y no transmisores para determinar su influencia en la inoculación viral. Considerando los resultados obtenidos, se discutirá el mecanismo específico de inoculación de CaMV y la posible existencia de un segundo receptor viral en el vector.

SIM-48

EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN CODIFICADO POR EL GEN *FTF1* ES UN FACTOR DE VIRULENCIA ESPECÍFICO DE *Fusarium oxysporum*

de Vega-Bartol, J.J.¹, Ramos, B.², Martín-Rodríguez, N.³, Tello, V.¹, García-Sánchez, M.A.⁴ y Díaz-Mínguez, J.M.¹

¹ Centro Hispano Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Dpto. Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca, C/ Duero 12, Villamayor, 37185 Salamanca

² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), UPM-INIA, Campus de Monteganceno, Pozuelo de Alarcón, 28223 Madrid. ³Departamento de Producción y Protección Vegetal, NEIKER-TECNALIA, Granja Modelo de Arkaute, Apto. 46, 01080 Vitoria

⁴ Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Avda. Pío XII 55, 31008 Pamplona

El gen *ftf1* es un factor de transcripción presente en múltiples copias en las estirpes muy virulentas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* y cuya presencia ha sido comprobada en buen número de otras formas especiales de este hongo. *ftf1* es homólogo del gen *ftf2*, que ha sido detectado en un amplio rango de ascomicetos filamentosos, tanto fitopatógenos como saprofitos y que parece implicado en metabolismo nutricional. La función de *ftf1* es incierta, si bien se ha demostrado su sobreexpresión específica in planta entre las 18 y 24 horas después la infección, la presencia de múltiples copias en estirpes de alta virulencia, y la correlación entre abundancia del transcrito y virulencia. Con el fin de clarificar la función de *ftf1*, se han ampliado los análisis preliminares de silenciamiento realizados en tomate a la interacción *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* y judía. Asimismo se ha realizado un estudio comparativo de los fenotipos determinados por el silenciamiento de *ftf2* en estirpes no patógenas y estirpes poco virulentas y el silenciamiento conjunto de *ftf1* y *ftf2* en estirpes muy virulentas. Los transformantes silenciados en ambos genes muestran una reducción en el crecimiento, esporulación y virulencia, tanto en judía como en tomate. Las estirpes en las cuales se silenció únicamente *ftf2* presentan un fenotipo con una significativa reducción del crecimiento y la conidiación cuando crecen en medio de cultivo, pero ningún cambio en patogenicidad y/o virulencia. La comparación de los fenotipos observados en ambos tipos de estirpes demuestra la implicación de *ftf1* en la expresión de la virulencia. Por otra parte, los resultados del rastreo de los genomas secuenciados de distintos hongos filamentosos, con fragmentos de los genes *ftf1* y *ftf2* permite concluir que *ftf1* es un factor de virulencia multicopia característico de estirpes muy virulentas del complejo de especies de *Fusarium oxysporum* (FOSC, *Fusarium oxysporum* Species Complex).

* Investigación financiada por ITACyL-Junta de Castilla y León (proyecto SA-03-C2), Junta de Castilla y León (proyecto GR64) y MICINN (proyecto 2009-08954).

**SESIÓN PLENARIA III:
PATOGENESIS Y
RESISTENCIA**



PLE-49

HopN1, UNA PROTEÍNA EFECTORA DE *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 QUE INTERFIERE CON LA FOTOSÍNTESIS PARA FAVORECER LA INFECCIÓN EN LA PLANTA

Rodríguez-Herva, J. J., Cuartas Lanza, R., González-Melendi, P., Antúnez-Lamas, M., Rodríguez-Palenzuela, P. y López-Solanilla, E.

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP). Universidad Politécnica de Madrid-Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Parque Científico y Tecnológico de la UPM. Campus de Montegancedo. 28223 - Pozuelo de Alarcón, Madrid.

Pseudomonas syringae pv. *tomato* DC3000 es el agente causal de la mancha bacteriana en tomate y otras plantas, como *Arabidopsis*. Esta bacteria fitopatógena es capaz de suprimir la inmunidad natural de la planta mediante la inyección, a través de su sistema de secreción tipo III (T3SS), de una batería de proteínas denominadas *efectores*, en el citosol de la célula vegetal. HopN1, uno de los efectores translocado por esta bacteria, es una proteína con actividad cisteín proteasa capaz de inhibir la muerte celular programada asociada, tanto a la respuesta hipersensible (HR) en plantas no huéspedes (como el tabaco), como a la enfermedad causada por dicha bacteria en tomate. En el desarrollo de este trabajo se ha demostrado que HopN1 suprime las respuestas de defensa asociadas a la inmunidad innata, tales como la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la deposición de callosa. Además, mediante el uso de un derivado de la proteína HopN1 que portaba una cola de histidinas se ha logrado identificar la proteína PsbQ como su diana en tomate. PsbQ es un componente del complejo productor de oxígeno del Fotosistema II (PSII). En consonancia con esta interacción, se ha localizado HopN1 en cloroplastos y se ha demostrado su capacidad para degradar PsbQ e inhibir la actividad del PSII en preparaciones de tilacoides de tomate. Por otra parte, el análisis de plantas de tabaco en las cuales la expresión de PsbQ estaba silenciada mostró una producción de ROS disminuída, así como una alteración en la respuesta de muerte celular programada asociada a la infección por DC3000. En resumen, nuestros datos indican que PsbQ contribuye a la barrera de defensa de la planta frente a patógenos y como tal, también constituye una diana para la supresión por parte del patógeno.

PLE-50

ESTUDIO DEL EFECTO DEL NITRÓGENO EN EL METABOLOMA DEL TOMATE Y ARABIDOPSIS Y SU INFLUENCIA EN LA SUSCEPTIBILIDAD A *Pseudomonas syringae*

Rico, A.¹, Steinbrenner, A.¹, Ward, J. L.², Beale, M. H.², Preston, G. M.¹

¹ Department of Plant Sciences. University of Oxford. South Parks Road OX1 3RB, Oxford, UK. Email: gail.preston@plants.ox.ac.uk

² The National Centre for Plant and Microbial Metabolomics. Rothamsted Research. Harpenden, AL5 2JHQ, UK. Email: mike.beale@bbsrc.ac.uk

El nitrógeno (N) es un nutriente limitante en el suelo y los sistemas agrícolas convencionales dependen de la aplicación de fertilizantes nitrogenados para mantener el desarrollo y crecimiento de la planta. Es bien sabido que la deficiencia en N resulta en un bajo crecimiento y hace a las plantas más susceptibles a ciertos patógenos, pero el exceso de N también acarrea efectos negativos que incluyen una excesiva vegetación y una reducción cuantitativa de la resistencia a ciertas plagas y enfermedades. La bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae* habita en el apoplasto de la hoja durante su ciclo de vida infectivo. Algunos análisis genómicos y nutricionales indican que la bacteria patógena de tomate y *Arabidopsis P. syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst*) está más especializada y adaptada a crecer en este nicho que otras *Pseudomonas* no patógenas de plantas. Esto apoya la hipótesis de que además de los factores de patogenicidad, algunas de las claves para la colonización de un huésped susceptible se basan en la adaptación y modificación de las características nutritivas y fisiológicas del apoplasto vegetal. A partir de esta premisa, hemos investigado la relación entre la nutrición nitrogenada y la resistencia a enfermedades, usando como modelos plantas de tomate y *Arabidopsis*. Hemos demostrado que el exceso de N aumenta la susceptibilidad a *Pst* en tomate pero tiene un efecto menos pronunciado en *Arabidopsis*. Los análisis metabolómicos de muestras de hoja y apoplasto de plantas de tomate y *Arabidopsis* cultivadas bajo diferentes regímenes de N muestran que tanto *Pst* como el N tienen un impacto significativo en el metaboloma de la hoja y el apoplasto. Más aún, el aporte elevado de N amplifica los niveles de metabolitos inducidos durante la patogénesis en las hojas infectadas con *Pst*. Estos análisis también han identificado varios metabolitos específicos de apoplasto infectado por *Pst* y podrían representar marcadores prometedores para la detección asintomática de *Pst* en planta. Por último, un análisis con microarrays indican que el elevado N provoca cambios en la expresión genética coincidentes con las observaciones obtenidas en el estudio metabolómico.

PLE-51

EVOLUCIÓN DE LAS POBLACIONES DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* EN ESPAÑA

Gómez-Lama, C., Valverde-Corredor, A., Pérez-Artés, E.

IAS-CSIC, Córdoba. E-mail: eperezartes@ias.csic.es

Las poblaciones de hongos fitopatógenos pueden sufrir cambios genéticos adaptativos en respuesta a la presión selectiva ejercida por los cambios en la genética del huésped. Nuestros trabajos en el patosistema *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Fod)/clavel han puesto en evidencia una elevada tasa de variación (adaptación) en las poblaciones de Fod, reflejada a nivel genético y patogénico. En nuestras investigaciones hemos analizado una colección de 75 aislados de Fod, obtenidos de las zonas productoras de clavel del sur de España entre los años 1998 y 2003, y caracterizados racialmente mediante test de patogenicidad con cultivares de clavel diferenciadores. Esta colección se completó posteriormente con 27 aislados muestreados en las mismas zonas durante 2008. Se empezó analizando molecularmente la colección de aislados previamente asignados a raza. Para ello utilizamos marcadores RAPDs, amplificación de los ADNs con iniciadores raza-específicos, amplificación del transposón *Fot1*, análisis de las secuencias IGS, determinación de la presencia y número de copias del factor de transcripción *fff1*, y determinación de la compatibilidad vegetativa entre aislados. Los clusters inicialmente establecidos por los marcadores RAPDs fueron paulatinamente confirmados por el resto de marcadores mencionados, y pusieron de manifiesto la existencia de diversidad genética no solo inter-razas sino también intra-razas, algo nunca descrito anteriormente en la literatura. Mediante tests de patogenicidad hemos comprobado que dicha diversidad genética tiene significación patogénica, al existir una relación entre grupo molecular dentro de una raza y nivel de virulencia. Los 28 nuevos aislados muestreados en 2008 fueron analizados molecularmente, y asignados al grupo de virulencia y raza correspondiente en función de los marcadores obtenidos. La validez de dichos marcadores para la asignación fue posteriormente corroborada por los resultados de nuevos tests de patogenicidad. Una cuestión muy interesante es la evolución que se observa en la composición de la población de Fod a lo largo del tiempo. Si se compara la proporción en que cada raza y grupo de virulencia dentro de ella está presente en la población desde 1998 hasta 2008, se observan dos acontecimientos que tienen significación epidemiológica: a) dentro de los aislados de la raza 2 se ha producido un desplazamiento de aquéllos del grupo menos virulento a favor de los del grupo más virulento, y b) los aislados de raza 1 están proliferando y comparten nicho ecológico con los de raza 2. Ambas circunstancias podrían explicar la observación de síntomas de la enfermedad en zonas y/o sobre cultivares de clavel tradicionalmente utilizados por ser resistentes o tolerantes a la misma.

* Investigación financiada por el Proyecto AGL2006/03252.

PLE-52

**ESTUDIOS GENÉTICO E HISTOLÓGICO DE *Phytophthora ramorum*
EN HOSPEDANTES ORNAMENTALES**

Pérez-Sierra, A.¹, García-Breijo, F.², Reig, J.⁵, Vercauteren, A.³, Heungens, K.³, Landeras, E.⁴, y Abad-Campos, P.¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: pabadcam@eaf.upv.es

² Dpto. Ecosistemas Agroforestales, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia

³ Institute for Agricultural and Fisheries Research (ILVO), Burg. Van Gansberghelaan 96, bus 2, 9820 Merelbeke, Bélgica

⁴ Laboratorio de Sanidad Vegetal, Lucas Rodríguez 4 bajo, 33011 Oviedo

⁵ Jardín Botánico de la Universidad de Valencia. c/ Quart, 80; 46008-Valencia

Desde 2002 se han realizado muestreos que han permitido detectar *Phytophthora ramorum* en *Rhododendron*, *Viburnum* y *Camellia* en viveros ornamentales del norte de España. Se ha analizado una colección de 95 aislados españoles con nuevos marcadores de microsátélites que son polimórficos en la población europea de *P. ramorum*. Todos los aislados son del tipo de apareamiento A1, ya que la producción de oogonios sólo fue inducida en presencia de aislados A2 de *P. cryptogea*. Se distinguieron 12 genotipos del linaje EU1, siendo EU1MG1 el genotipo mayoritario, al igual que sucede en otros países europeos. Se han identificado cinco nuevos genotipos, tres procedentes de hospedantes *Rhododendron* localizados en una misma región, mientras que los otros dos genotipos infectaban plantas de *Camellia* en dos regiones distintas. También se ha estudiado histológicamente el proceso de infección de plantas de *Rhododendron*, *Camellia*, *Viburnum* y *Pieris*, tras la inoculación artificial de hojas con una solución de 10^4 ml⁻¹ de zoosporas de *P. ramorum*. Se han aplicado diversas técnicas de tinción (safranina-verde rápido, azul de toluidina O, Lugol, azul de anilina y azul de lactofenol) y fluorocromos para la observación de las hifas y otras estructuras del patógeno, mediante microscopía de campo claro y de epifluorescencia, observándose una diferente respuesta a la infección según la planta hospedante. Las hifas del patógeno penetran a través de los estomas, invaden las células epidérmicas y, posteriormente, progresan rápidamente entre las células del mesófilo llegando, en ocasiones, a introducirse en ellas. La afectación de la pared de las células causa el colapso y, finalmente, la desintegración celular y desorganización del mesófilo. Esto ocurre principalmente en el parénquima lagunar, aunque en infecciones avanzadas también se aprecia en el parénquima empalizada. Esporangios y clamidosporas se desarrollan principalmente en los espacios intercelulares del mesófilo. En algunas muestras se han observado alteraciones en los haces vasculares.

PLE-53

**IDENTIFICACIÓN Y POSIBLE IMPLICACIÓN DE UNA DEAD-BOX
HELICASA EN EL CICLO DE INFECCIÓN DE LOS VIRUS
DE LA FAMILIA *Bromoviridae***

Herranz, M.C.¹, Aparicio, F.¹, Sánchez-Navarro, J.A.¹, Díez, J.², Pallás, V.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Politécnica de Valencia-CSIC, Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia. E-mail: cherranz@ibmcp.upv.es

² Department of Experimental and Health Sciences, Universitat Pompeu Fabra, 08003 Barcelona.

Una característica común a todos los virus de plantas es que codifican un número limitado de proteínas, lo cual les hace dependientes obligados de factores celulares para completar su ciclo replicativo. Muchos virus de RNA utilizan el RNA viral como RNA mensajero y como RNA genómico, por lo que necesitan mecanismos que les permitan separar los procesos de replicación y encapsidación de los de traducción. Hay algunos estudios sobre los factores del huésped implicados, que indican que algunos virus utilizan o interaccionan con la maquinaria celular que controla la degradación y traducción de los mensajeros. Dicha maquinaria se concentra en dominios citoplasmáticos a los que se ha denominado «p-bodies» (cuerpos de procesamiento) y diversos estudios han revelado que algunos de sus componentes se requieren para completar el ciclo vital de ciertos virus. El Virus del mosaico del bromo (BMV) es capaz de completar su ciclo vital en levadura donde se han llevado a cabo diferentes estudios genéticos y de localización demostrando su conexión con los p-bodies. La DEAD-box helicasa Dhh1 de levadura, es una proteína componente de los p-bodies y es necesaria para que el BMV lleve a cabo la traducción y replicación de forma eficiente. En el momento de iniciar este trabajo no se había descrito el ortólogo correspondiente en plantas. Mediante estudios de homología de secuencia entre Dhh1 y el genoma de *Arabidopsis thaliana*, hemos encontrado una subfamilia de DEAD-box helicasas de tres miembros, AtRH8, AtRH6 y AtRH12, que presentan una homología del 70% con la proteína de levadura. En el presente trabajo se analiza si estas tres proteínas podrían ser los homólogos, en planta, de la Dhh1p de levadura. Estudios de localización subcelular han puesto de manifiesto que la fusión GFP:AtRH8 forma agregados granulosos citoplásmicos que co-localizan con un marcador de «p-bodies» (DCP1). Además, AtRH8, colocaliza con la proteína de cubierta (CP) del ilarvirus de las manchas necróticas de los Prunus (PNRSV, familia Bromoviridae). La posible implicación de la AtRH8 en el ciclo de infección de los miembros de la familia *Bromoviridae* será discutida.

PLE-54

LA EXPRESIÓN ECTÓPICA DEL SUPRESOR DE SILENCIAMIENTO p23 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS (CTV) EN NARANJO AMARGO TRANSGÉNICO PERMITE A CTV SUPERAR SU RESTRICCIÓN EN EL MOVIMIENTO CÉLULA A CÉLULA

Fagoaga, C., Pensabene-Bellavia, G., Moreno, P., Navarro, L., Peña, L.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (I.V.I.A.). Ctra. Moncada-Náquera Km 4,5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: cfagoaga@ivia.es

El virus de la tristeza de los cítricos (CTV) es el agente causal de la enfermedad viral más importante de los cítricos en el mundo. En las plantas infectadas, el virus se restringe a células floemáticas. Su gama de huéspedes se restringe a especies del género *Citrus* y a géneros afines de la familia Rutáceas. Los distintos genotipos cítricos huéspedes de CTV responden de forma muy diferente a la infección, a veces dependiente de la cepa viral con que se inoculan. Mientras que plantas infectadas de naranjo dulce (*Citrus sinensis* L. Osb.) o de lima Mexicana (*C. aurantifolia* (Christm.) Swing.) muestran normalmente infección sistémica y títulos virales relativamente elevados, en naranjo amargo (*C. aurantium* L.) o en limón (*C. limon* L. Burn. f.) CTV suele acumularse a muy bajas concentraciones y se distribuye de forma irregular. Experimentos recientes con una cepa clonal de CTV que contiene y expresa el gen de la proteína verde fluorescente (GFP) han demostrado que el virus es incapaz de moverse célula a célula en plantas de naranjo amargo. Previamente, hemos demostrado que la proteína supresora de silenciamiento p23 de CTV es un determinante de la patogénesis viral porque induce fenotipos aberrantes similares a los mostrados por la infección viral cuando se sobre-expresa constitutivamente en plantas transgénicas de cítricos, tales como lima Mexicana, naranjo dulce y naranjo amargo. También hemos demostrado que la sobreexpresión de p23 en lima Mexicana transgénica infectada con CTV ni incrementa el título viral cuando se compara con el de los correspondientes controles ni altera la sintomatología/fenotipo aberrante, excepto por el acucharamiento de las hojas asociado con la infección viral durante los primeros meses después de la inoculación. Ahora nos ha interesado investigar el efecto de la sobreexpresión de p23 sobre la acumulación y distribución de CTV en huéspedes que muestran una sensibilidad muy diferente frente a la infección viral, tales como naranjo dulce y naranjo amargo. Aquí mostramos que la acumulación ectópica de p23 en células transgénicas aumenta el título y vence las restricciones de movimiento a larga distancia y célula a célula de CTV en naranjo amargo p23 infectado, mientras que en naranjo dulce la sobre-expresión de p23 no afecta ni al título ni a la distribución viral en células floemáticas.

SESIÓN PLENARIA IV: CONTROL



PLE-55

**RESPUESTA DE VIDES MICORRIZADAS AL HONGO PATÓGENO
*Armillaria mellea***

Nogales, A.¹, Estaún, V.¹, García-Figueres, F.², Camprubí, A.¹ y Calvet, C.¹

¹ Dep. Protecció Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. IRTA. 08348 Cabrils, Barcelona

² Laboratori de Sanitat Vegetal. DARP. Generalitat de Catalunya. 08040 Barcelona

El hongo *Armillaria mellea* (Vahl:Fr.) P. Kumm, que produce la podredumbre blanca de raíz, es una de las principales causas del síndrome de replante en los viñedos españoles. Existen pocas medidas de control disponibles y no hay portainjertos comerciales que confieran resistencia. La inoculación de las vides con hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) se perfila como una alternativa eficaz para aumentar su tolerancia frente a *A. mellea*. Para demostrar esta hipótesis se realizaron tres experimentos de interacción entre el hongo MA *Glomus intraradices* y *A. mellea*.

El primero se llevó a cabo en un suelo de replante de la Conca del Barberà (Cataluña) infestado por el patógeno. Se plantaron 150 vides de la variedad Cabernet-Sauvignon injertadas sobre el portainjerto 110 Richter, y la mitad se inocularon en campo con *G. intraradices*. Al cabo de 2 meses ya se observó una disminución de la mortalidad de las vides inoculadas y una estimulación de su desarrollo vegetativo.

En el segundo experimento, realizado en condiciones de invernadero con el portainjerto 110 Richter, se establecieron cuatro tratamientos: inoculación con *G. intraradices*, inoculación con *A. mellea*, inoculación combinada con ambos hongos, y un tratamiento control no inoculado. Tras dos temporadas de crecimiento se pudo observar que las vides micorrizadas tuvieron un mayor crecimiento vegetativo y un menor avance de los síntomas de *A. mellea* que las no micorrizadas.

En el tercer experimento, se establecieron sistemas autotróficos de cultivo in vitro con vides 110 Richter micropropagadas, y se evaluaron los mismos cuatro tratamientos. Aunque el patógeno indujo un menor desarrollo de *G. intraradices* en su fase extraradical, a nivel de planta también se observó un incremento debido a la micorrización y menor avance de la sintomatología patogénica.

Los resultados obtenidos han demostrado un incremento de tolerancia de las vides micorrizadas frente al patógeno, que ha quedado demostrada en condiciones de campo y ha sido confirmada en los experimentos realizados en condiciones controladas de invernadero e in vitro.

* Financiación: proyecto RTA 04-027-C2 y AGAUR.

PLE-56

**UTILIZACIÓN DEL CURADO PARA EL CONTROL DE *Monilinia* spp.
EN MELOCOTONES Y NECTARINAS**

Usall, J.¹, Casals, C.¹, Teixidó, N.¹, Lamarca, N.¹, Viñas, I.²

¹IRTA, Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Av. Rovira Roure 191, 25198-Lleida.
E-mail: Josep.usall@irta.cat

² Universitat de Lleida, Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Av. Rovira Roure 191, 25198-Lleida

La podredumbre marrón causada por *Monilinia* spp es la principal enfermedad postcosecha en melocotones y nectarinas. En muchos países, entre ellos el nuestro, no hay ningún producto fitosanitario autorizado para su aplicación en postcosecha, y generalmente las aplicaciones precosecha no son suficientes para evitar esta enfermedad, por lo que es necesario encontrar métodos alternativos de control. En este trabajo se ha estudiado el efecto del tratamiento de curado a diferentes temperaturas, tiempo de exposición y humedad relativa, tanto en fruta inoculada artificialmente como de forma natural, así como su efecto sobre la calidad de la fruta. Así mismo se determinó el efecto de la madurez de la fruta, el tiempo de infección previo al tratamiento y el nivel de inóculo del patógeno en la eficacia de los tratamientos de curado. Se ensayaron tres temperaturas (40, 45 y 50 °C) durante diferentes tiempos de exposición (desde 30 min a 6 h). El tratamiento de curado a 50 °C durante 2 h consiguió niveles de control por encima del 95%. Las temperaturas inferiores de curado necesitaron de más tiempo para poder conseguir la misma efectividad. Se estudiaron 4 niveles de humedad relativa (HR) (60%, 80%, 90% y 99%) en el curado a 50 °C durante 1, 2, 3 y 4 h. Cuando las condiciones de HR fueron de 80% y 60%, se necesitó más tiempo para conseguir los mismos niveles de control que cuando la fruta se curó a la misma temperatura pero con HR del 90% y 99%. En otro estudio con 4 variedades distintas de melocotón y nectarina inoculadas artificialmente con *Monilinia laxa* o *M. fructicola*, se consiguió controlar totalmente la podredumbre marrón con el tratamiento de curado de 50 °C y 95-99% HR durante 2 h. El mismo nivel de control se consiguió en fruta con inóculo natural. Cuando se incrementó el nivel de inóculo de *Monilinia* spp de 10³ a 10⁶ conidias/ml, fue necesario incrementar el tiempo de curado de 2 a 4 para conseguir controles totales de la enfermedad. Este tratamiento de curado no afectó negativamente a la calidad de la fruta y en algún caso consiguió reducir la pérdida de firmeza de los frutos tratados.

PLE-57

CONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA RADICULAR DEL AGUACATE MEDIANTE LA APLICACIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS

Bonilla, N.¹, Landa, B.B.², Hermoso, J.M.³, González, J.³, Cazorla, F.M.¹, Martínez, M.⁴, Gaju, N.⁴, de Vicente, A.¹

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora» (IHSM-UMA-CSIC), ¹ Departamento de Microbiología, Universidad de Málaga, Campus Teatinos, 29071 Málaga. bonilla@uma.es. ³ E.E. «La Mayora» (CSIC) 29750 Algarrobo Costa, Málaga

² IAS Córdoba (CSIC). Finca Alameda del Obispo 14080 Córdoba

⁴ Departamento de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona, Campus de la UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona

Las podredumbres radiculares del aguacate (*Persea americana* Mill) afectan gravemente a este cultivo a nivel mundial. En el área mediterránea resulta especialmente destructiva la podredumbre radicular blanca causada por el hongo *Rosellinia necatrix*. Entre las posibles estrategias de control, sólo algunas son compatibles con el cultivo ecológico del aguacate, cada vez más extendido en Andalucía. Entre ellas destaca la aplicación de enmiendas orgánicas, utilizada previamente para el control de hongos de suelo con resultados prometedores. En este estudio se ha diseñado un ensayo de invernadero para comprobar la capacidad supresiva de diferentes enmiendas orgánicas frente a *R. necatrix*. Las distintas enmiendas se aplicaron sobre plantas de aguacate de dos años de edad y se dejaron madurar durante seis meses antes de inocular el patógeno en el suelo. El seguimiento de la enfermedad se realizó mediante la evaluación de los síntomas aéreos durante seis meses tras la inoculación. Este ensayo en planta se realizó durante dos años consecutivos y en ambos ensayos se observaron reducciones en el índice de enfermedad de los tratamientos con enmienda con respecto al tratamiento control. Además del efecto sobre el desarrollo de la enfermedad, se estudió el posible efecto de las enmiendas orgánicas sobre el crecimiento de las plantas, la composición de la microbiota y sobre diversas actividades microbianas, tanto en el suelo como en la rizosfera de la planta. La diversidad microbiana se analizó mediante aislamiento y recuento en placa y utilizando técnicas moleculares como PCR-DGGE y T-RFLP. La diversidad metabólica se estudió mediante CLPP y el análisis de distintas actividades enzimáticas. Los resultados muestran diferencias en las comunidades microbianas relacionadas con el tipo de enmienda utilizada.

* Este trabajo ha sido financiado por el Plan Nacional I+D+I del MCI (AGL08-5453-C02-01) cofinanciado con fondos FEDER (EU) y el Plan Estratégico BIOÁNDALUS, CICE–Junta de Andalucía (BIOÁNDALUS 08/1/11.1). Nuria Bonilla ha recibido una beca FPU del MCI.

PLE-58

PDCYP51B UNA NUEVA ESTEROL 14 α -DEMÉTILASA DE *Penicillium digitatum* PRINCIPAL RESPONSABLE DE RESISTENCIA A DMIs

De Ramón, M.¹, López, M.², González-Candelas, L.², Sánchez-Torres, P.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Ctra Moncada - Náquera, Km. 4,5, Moncada, 46113-Valencia

² Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Ap. Correos 73, Burjassot, 46100-Valencia. E-mail: palomas@ivia.es

Los fungicidas DMIs (inhibidores de la demetilación en la biosíntesis del ergosterol) son los más empleados en el control de *Penicillium digitatum*, principal hongo patógeno causante de las podredumbres durante la post-cosecha de frutos cítricos. La aparición de resistencias a los mismos ha provocado que ya no sean eficaces y que sea importante conocer los mecanismos de resistencia desarrollados por *P. digitatum*.

Para ello, a partir de una librería genómica de *P. digitatum*, se ha identificado y caracterizado un nuevo gen *PdCYP51B* que codifica una esterol 14 α -demetilasa. Este nuevo gen presenta una alta homología con otros genes *CYP51B* de hongos filamentosos. Su secuencia nucleotídica revela la presencia de 3 intrones y codifica una proteína de 524 aminoácidos.

La caracterización de un total de 70 aislados de *P. digitatum*, mostró que 47 eran resistentes y 23 sensibles a DMIs. De todos los aislados resistentes, 44 (93,6%) de los aislados-R presentaban una inserción tipo «enhancer» de 195-pb en el promotor de *PdCYP51B* que actúa como activador transcripcional tal y como muestra el análisis de la expresión mediante Northern. Ninguno de los aislados-S presentó dicha inserción.

Mediante el empleo de cebadores específicos los aislados se clasificaron en tres fenotipos distintos, el 33% sensibles (S), el 4% resistentes con 5 copias en tándem (5R) en el promotor de *CYP51* y el 63% resistentes con inserción de 195-pb (R). Todo ello pone de manifiesto que el incremento de la expresión de *PdCYP51B* es el mecanismo más frecuente de adquisición de resistencia a DMIs en *P. digitatum*.

Así mismo el análisis de dicho promotor en diferentes especies del género *Penicillium* demostró que la presencia de esta inserción es específica de *P. digitatum*.

PLE-59

DESARROLLO DE UN PRODUCTO DE ORIGEN MICROBIOLÓGICO PARA EL CONTROL DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS

Sarro, A.¹; Ornat, C.², Lara, J.M.¹; Sorribas, F. J.²; Fernández, C.¹

¹ Futureco Bioscience SL y ² DEAB-UPC, Parc Mediterrani Tecnologia, Esteve Terrades n.º 8, Castelldefels 08860. E-mail: carolina.fdez@futurecobioscience.com

En los suelos infestados con nematodos es común la presencia de microorganismos antagonistas con acción bionematicida. Estos Agentes de Control Biológico (ACBs) comparten rasgos fisiológicos y rutas metabólicas que se pueden aprovechar para diferenciarlos del resto de la población microbiana. Con base en características específicas de microorganismos antagonistas, se utilizó la habilidad de crecimiento en sustratos específicos con el fin de seleccionar posibles ACB nematicidas en muestras de suelos, verificándose su efecto a través de bioensayos *in vitro* e *in vivo*.

Se muestrearon parcelas agrícolas con antecedentes de nematodos recolectándose material edáfico y vegetal. Diluciones seriadas del suelo y suspensiones acuosas que contenían juveniles o huevos de *Meloidogyne sp.* o *Globodera sp.*, fueron sembradas sobre diferentes medios de cultivo no selectivos, obteniéndose un total de 328 microorganismos, 109 de los cuales, mostraron actividad quitinolítica y proteolítica, por lo que se consideraron potenciales ACB. Catorce aislados bacterianos y 13 fúngicos fueron seleccionados, por mostrar los mayores halos de degradación de quitina y proteína, determinándose su capacidad de inhibir la eclosión de huevos de *Meloidogyne incognita* en cámaras de eclosión en condiciones *in vitro*. Suspensiones acuosas de los aislados fueron aplicadas sobre 3 masas de huevos. Al cabo de 24 horas, las cámaras de eclosión se pusieron en agua y se determinó la emergencia de juveniles 1, 2, 7, 14, 21 y 28 días después del inicio del bioensayo. Diez de los 27 aislados evaluados presentaron porcentajes de inhibición entre el 75 y 99%.

En la siguiente etapa, se escogieron las 3 bacterias con mayor actividad y se prepararon 45 Prototipos de Productos Crudos (PPCs) a partir de fracciones obtenidas mediante 3 métodos de fermentación (en bio-reactor, con agitación orbital y en estufa bacteriológica). Los prototipos fueron evaluados sobre la eclosión de huevos, seleccionándose el obtenido a partir de la cepa Q29A fermentada en bio-reactor.

Finalmente, a partir de la cepa seleccionada (Q29A) se prepararon 8 prototipos de formulación, optimizándose el medio de cultivo y los parámetros de producción en reactor. Se estudió su estabilidad a diferentes temperaturas y se ensayaron sobre plantas de tomate infectadas con nematodos. Las dos formulaciones con mayor estabilidad y eficacia continúan siendo objeto de estudio para el desarrollo de un producto comercial.

PLE-60

**CONTROL DE *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) EN TOMATE
MEDIANTE LA RESISTENCIA A *Bemisia tabaci***

Rodríguez-López, M.J.¹, Garzo, E.², Bonani, J. P.², Fereres, A.², Moriones, E.¹,
Fernández-Muñoz, R.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora»,
Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-
UMA-CSIC), Estación Experimental «La Mayora», 29750 Algarrobo Costa,
Málaga. E-mail: moriones@eelm.csic.es

² Instituto de Ciencias Agrarias, Centro de Ciencias Medioambientales-Consejo
Superior de Investigaciones Científicas (ICA-CCMA-CSIC), C/Serrano 115-bis,
28006 Madrid.

El cultivo de tomate se ve afectado por aislados de más de 60 especies de begomovirus en diferentes partes del mundo, entre ellas *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), cuyas infecciones en muchos casos suponen un factor limitante de producción. En condiciones naturales, estas especies virales se transmiten por la mosca blanca *B. tabaci* y, en la actualidad, el control de las infecciones se basa esencialmente en el control del insecto mediante la aplicación de insecticidas. Sin embargo, el uso intensivo de agroquímicos ha contribuido al desarrollo de resistencia en el vector con el consecuente incremento de la incidencia de los virus. Por ello, la incorporación de resistencia al virus en planta es una estrategia de control muy deseable si bien su aplicación no es sencilla dado que no es fácil disponer de fuentes de resistencia y la resistencia conseguida no siempre es completa. Una estrategia alternativa podría ser la resistencia a la infección basada en la incorporación de resistencia al vector. Estudios previos de nuestro grupo basados en ensayos de antibiosis y antixenosis revelaron resistencia a *B. tabaci* en la entrada TO-937 de *Solanum pimpinellifolium*, asociada con la presencia de tricomas glandulares de tipo IV y la secreción de acilsacarosas. Recientemente, hemos obtenido una línea de tomate derivada de TO-937, ABL 14-8, por cruzamiento recurrente sobre fondo genético del cultivar Moneymaker, y que mantiene estas características. En este trabajo ponemos de manifiesto una menor preferencia de *B. tabaci* por este genotipo y que, aunque su donante de resistencia al insecto TO-937 puede infectarse por TYLCV, la resistencia a *B. tabaci* de ABL 14-8 resulta en una clara limitación de la dispersión tanto primaria como secundaria del virus en y desde este genotipo. Se ha estudiado el comportamiento alimentario de la mosca blanca en ABL 14-8 mediante la técnica EPG (*Electrical Penetration Graphs*), observándose una clara resistencia a *B. tabaci* debida a factores superficiales y no a factores floemáticos, que dificultan y retrasan la alimentación y la transmisión del virus.

**SESIÓN SIMULTÁNEA VII:
PATOGENESIS Y
RESISTENCIA 3**



SIM-61

**LOCALIZACIÓN SUBCELULAR
DE PROTEÍNAS DE *Tomato chlorosis virus***

Orlío, A. F.¹, Peremyslov, V. V.², Dolja V. V.², Navas-Castillo, J.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Estación Experimental «La Mayora», 29750 Algarrobo-Costa, Málaga. E-mail: jnavas@eelm.csic.es

² Department of Botany and Plant Pathology and Center for Gene Research and Biotechnology, Oregon State University, Corvallis, Oregon 97331, USA

El genoma del *Crinivirus tomato chlorosis virus* (ToCV) posee, además de genes conservados dentro de la familia *Closteroviridae*, otros propios sin homólogos conocidos. Las funciones de algunas de sus proteínas son deducidas por comparación con las proteínas descritas en otros miembros de la familia (Hsp70h, p59, CP y CPm). Se ha demostrado asimismo la función supresora del silenciamiento génico para las proteínas p22 (RNA1), CP y CPm (RNA2)¹. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue estudiar la localización subcelular de las proteínas de ToCV para generar información sobre sus posibles funciones, un paso clave en el estudio de la interacción virus-planta-vector.

Todos los ORFs del RNA1 y RNA2 de ToCV, excepto ORF1a y ORF1b, se insertaron en 5' y 3' de las secuencias codificantes de las proteínas fluorescentes amarilla (YFP) y mCherry. Para expresar estas construcciones de forma transitoria, los plásmidos fueron introducidos en *Agrobacterium tumefaciens* por electroporación. Las hojas de *Nicotiana benthamiana* agroinfiltradas se utilizaron para la detección de las proteínas fusionadas mediante microscopía láser confocal. Una gran parte de las proteínas de ToCV se localizan en el citoplasma y en el núcleo. Las proteínas p9 y CP se encuentran también en torno a los cloroplastos. Las proteínas p6 y p7 se localizan en el retículo endoplasmático. El análisis de los mutantes generados para las dos cisteínas presentes en la proteína p6 indicaron que la cisteína presente en el extremo N-terminal es responsable de la formación de dímeros. Las proteínas Hsp70h y CPm se encuentran localizadas en los plasmodesmos, lo que sugiere su papel en el movimiento del virus célula a célula. La localización en los plasmodesmos de estas proteínas es dependiente de miosinas clase VIII, ya que en experimentos de co-expresión con colas de este tipo de miosinas ambas quedan restringidas al citoplasma.

Estos resultados permiten por primera vez obtener una visión general de la localización subcelular de las proteínas codificadas por un miembro de la familia *Closteroviridae*.

¹ Cañizares *et al.*, *Virology* 379:168-174 (2008).

SIM-62

ALTERACIONES TRANSCRIPTÓMICAS COMPARADAS DE VARIEDADES DE MELÓN (SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE) INFECTADAS POR EL VIRUS DEL MOSAICO DE LA SANDÍA

González-Ibeas, D.¹, Donaire, L.², Cañizares, J.³, Llave, C.², Aranda, M.A.¹

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Apdo. correos 164, 30100 Espinardo, Murcia. E-mail: m.aranda@cebas.csic.es

² Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), Departamento de Biología de Plantas, c/ Ramiro de Maeztu, 9, 28040 Madrid. E-mail: cesarllave@cib.csic.es

³ Departamento de Biotecnología, Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV-UPV), Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: jcanizares@upvnet.upv.es

El melón (*Cucumis melo* L.) es una de las frutas para consumo en fresco más importantes. España ocupa la quinta posición en producción mundial y lidera la producción europea. El consorcio español de genómica de melón ha generado una colección de ESTs de melón (MELOGEN database; <http://www.melogen.upv.es>, Gonzalez-Ibeas *et al.*, 2007. *BMC Genomics*, 8:306) que se ha usado para diseñar un microarray de oligonucleótidos de DNA (Mascarell-Creus *et al.*, 2009. *BMC Genomics*, 10:467). Los virus limitan seriamente la producción de melón. Díaz-Pendón y colaboradores escrutaron una colección de entradas de melón y especies afines para identificar fuentes de resistencia a, entre otros, el virus del mosaico de la sandía (*Watermelon mosaic virus*, WMV; género *Potyvirus*, familia *Potyviridae*), identificando una entrada resistente (TGR-1551) caracterizada por no mostrar síntomas y tener un título viral reducido tras la inoculación con WMV (Díaz-Pendón *et al.*, 2005. *Phytopathology* 95:840-846). En este trabajo, se ha medido por PCR cuantitativa a tiempo real la acumulación de RNA viral en un experimento a lo largo del tiempo utilizando extractos de RNA de tejidos de TGR-1551 y de otra entrada susceptible inoculada con WMV. Asimismo, se ha analizado la expresión de 17.000 unigenes de melón en ese mismo experimento. Los resultados sugieren que en ambas entradas, a tiempos tempranos post-inoculación, se desencadena una respuesta de defensa que, en el caso de la entrada susceptible no se mantiene a tiempos más largos, pero en el caso de TGR-1551 sí lo hace, pareciendo ésta la responsable del bajo título viral. También hemos analizado en estas entradas las alteraciones inducidas por la infección viral en los pequeños RNAs endógenos, en particular, en los micro RNAs (miRNAs). Para ello, hemos generado cuatro genotecas de pequeños RNAs que se han secuenciado parcialmente (Donaire *et al.*, 2009. *Virology* 392: 203–214) usando la tecnología 454 de Roche. Utilizando ambos tipos de datos, esperamos obtener una visión de las alteraciones transcriptómicas y de los procesos subyacentes en la respuesta de las plantas de melón a la infección por WMV.

SIM-63

**PAPEL DEL FACTOR eIF4E EN LA RESISTENCIA «NON-HOST»
DE PLANTAS DE *Nicotiana benthamiana* FRENTE A MNSV**

Rodríguez Moreno, L.¹, Nieto, C.,^{1,2} Aranda, M.A.¹, Truniger, V.¹

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Apdo. correos 164, 30100 Espinardo, Murcia. E-mail: truniger@cebas.csic.es

² Dirección actual: Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos (CRF-INIA), Autovía A-2, Km 36. Finca la Canaleja, PO BOX 1045, 28800 Alcalá de Henares, Madrid. E-mail: nieto.cristina@inia.es

La especie *N. benthamiana* muestra resistencia frente a todos los aislados del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV) a excepción de MNSV-264, único aislado capaz de infectar plantas de melón resistentes. Estudios realizados utilizando mutantes quiméricos entre un aislado de MNSV virulento (MNSV-264) y otro no virulento (MNSV- α 5) muestran que la susceptibilidad de *N. benthamiana* frente a los mutantes quiméricos correlaciona con su capacidad para infectar plantas de melón resistentes y a su vez, con el extremo 3' no traducido (3'-UTR) del aislado virulento. Trabajos previos han descrito que la resistencia a MNSV en plantas de melón está mediada por el factor eIF4E que actúa a nivel de la traducción. Basándonos en estas premisas, hemos estudiado el papel que juega el factor eIF4E en la resistencia «non-host» de *N. benthamiana* frente a MNSV. En este sentido, se llevaron a cabo experimentos de inoculación de protoplastos para evaluar la multiplicación de los aislados MNSV-264 y - α 5 células aisladas de *N. benthamiana*, determinándose que la resistencia actuaba a nivel unicelular. Un análisis en profundidad utilizando mutantes quiméricos, creados entre ambos aislados del virus, permitió determinar que la región 3'-UTR donde mapeaba el determinante de virulencia en *N. benthamiana* era la misma que la necesaria para la superación de la resistencia mediada por eIF4E en melón. Además, se evaluó en protoplastos de *N. benthamiana* la eficiencia de traducción de un gen marcador flanqueado por los extremos 5'- y/o 3'-UTRs de los aislados MNSV-264, - α 5 y algunas de las quimeras; los resultados obtenidos indican que el determinante de virulencia actúa como un potenciador de la traducción independiente de cap (3'-CITE) requiriendo la presencia en *cis* del extremo 5'-UTR de MNSV. Finalmente, utilizando un eIF4E de melón susceptible, al cual se le había fusionado una cola de histidinas para su detección en Western-blot, se complementó la infección viral del aislado MNSV- α 5 en plantas de *N. benthamiana* agroinfiltradas con la proteína eIF4E-Susceptible-6His y el supresor de silenciamiento P19. Estos resultados demuestran que eIF4E está implicado en el mecanismo de resistencia «non-host» en plantas de *N. benthamiana* frente a MNSV, tal y como ocurre en la resistencia específica de huésped en las plantas de melón.

SIM-64

DOS CAMBIOS NUCLEOTÍDICOS EN LA MOLÉCULA DEL *Citrus exocortis viroid* (CEVd) SUPRIMEN LA EXPRESION DE SÍNTOMAS EN CIDRO ETROG PERO NO EN HUÉSPEDES HERBÁCEOS

Serra, P., Murcia, N., Duran-Vila, N.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Apartado oficial. 46113 Moncada (Valencia). E-mail: pserra@ivia.es

Los viroides son pequeños RNAs monocatenarios (en un rango de 250-400 nt), covalentemente cerrados, que infectan y se replican en plantas superiores en las que pueden causar enfermedades. *Citrus exocortis viroid* (CEVd) es un miembro del género *Pospiviroid* dentro de la familia *Pospiviroidae*. Al igual que otros pospiviroides, la estructura secundaria en forma de varilla del CEVd sigue el modelo de los cinco dominios estructurales: Central (C), Patogénico (P), Variable (V), Terminal izquierdo (T_L) y Terminal derecho (T_R). El CEVd es el agente causal de la exocortis de los cítricos, un desorden caracterizado por la aparición de escamas y grietas en la corteza de especies sensibles como el naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), sus híbridos (citrange Troyer y citrange Carrizo) y la lima Rangpur (*Citrus limonia* Osb.), todos ellos ampliamente utilizados como portainjertos en plantaciones comerciales de cítricos. El cidro Etrog (*Citrus medica* L.) es la especie indicadora por excelencia que se utiliza para el diagnóstico biológico ya que manifiesta un síndrome característico de enanismo, epinastia de hojas y necrosis de hojas y tallos. En estudios anteriores se había identificado en muestras procedentes de Colombia, un aislado atípico de CEVd que no inducía síntomas en dicha indicadora. En el presente trabajo se describen las características biológicas y moleculares de esta nueva variante de CEVd, que hemos denominado CEVd^{co} y que efectivamente se comporta como una infección latente en cidro Etrog a pesar de acumularse en títulos similares a los de las variantes agresivas. Mediante ensayos de infectividad utilizando tanto variantes naturales como variantes obtenidas mediante mutagénesis dirigida, se ha demostrado que dos cambios nucleotídicos (314G→A and 315A→U) en la hebra inferior del dominio P son capaces de convertir una variante agresiva en una variante prácticamente asintomática en cidro Etrog. Por el contrario, los huéspedes herbáceos experimentales ensayados (*Gynura aurantiaca*, tomate y crisantemo) infectados tanto con las variantes naturales como con las mutadas manifestaron síntomas fuertes. Estos resultados indican que la manifestación de síntomas no está dirigida por los mismos determinantes en cítricos que en especies herbáceas experimentales.

SIM-65

**EFECTO PATOGENICO Y LOCALIZACIÓN NUCLEOLAR
DE LA PROTEÍNA SUPRESORA DEL SILENCIAMIENTO p23
DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS**

Ruiz-Ruiz, S.¹, Sánchez-Navarro, J.A.¹, Peña, L.², Navarro, L.², Moreno, P.², Flores, R.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV), Universidad Politécnica, Valencia. E-mail: suruirui@upvnet.upv.es

² Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada

El silenciamiento por RNA funciona en plantas y otros organismos eucarióticos como un mecanismo de defensa frente a infecciones virales. Para superar esta barrera, los virus codifican proteínas supresoras del silenciamiento. El virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*, CTV), género *Closterovirus*, expresa a partir de su genoma tres de estos supresores. Uno de ellos, p23, actúa sólo intracelularmente en plantas de *N. benthamiana* y *N. tabacum*. Es además una proteína que une RNA de manera cooperativa y un determinante de patogenicidad en cítricos. Para determinar su efecto en *N. benthamiana*, p23 se expresó a partir de un RNA subgenómico del virus X de la patata (*Potato virus X*, PVX). A 7 días post-inoculación (dpi) todas las plantas inoculadas, tanto con PVX silvestre como expresando p23, mostraron aclaramiento de las nervaduras y un mosaico clorótico suave. Sin embargo, sólo el PVX recombinante expresando p23 indujo enanismo y necrosis generalizada en hojas y tallos a 10 dpi, y la muerte a 15 dpi. Por consiguiente, la expresión de p23 acentúa notablemente la patogenicidad de PVX, posiblemente por un efecto sinérgico con el supresor de silenciamiento de este virus. Considerando que la localización subcelular de p23 podría aportar información acerca de su función, se fusionó al extremo 3' del gen p23 la secuencia codificante de la proteína verde fluorescente (GFP), y la proteína resultante se expresó en *N. benthamiana* mediante agroinfiltración. Dicha proteína fue localizada en el núcleo y más específicamente en el nucleolo y cuerpos de Cajal, así como en unas estructuras periféricas que parecen plasmodesmos. Estos resultados se confirmaron colocalizando la proteína p23 silvestre (209 aminoácidos) con diferentes proteínas marcadoras. Puesto que p23 contiene tres motivos ricos en aminoácidos básicos que pudieran ser reconocidos como señales de localización nucleolar (NoLS), se evaluó su efecto mediante la construcción de seis versiones truncadas de dicha proteína. La delección de los aminoácidos comprendidos entre las posiciones 158-209 no alteró el patrón de localización, mientras que el mismo se perdió al eliminar los fragmentos comprendidos entre los aminoácidos 125-209, 100-209, 50-66, 67-86 o 50-86. Por lo tanto, las regiones flanqueadas por los aminoácidos 50-86 y 100-158 (ambas con motivos básicos) contienen NoLS. En futuros experimentos se examinará si la localización de cada una de las versiones truncadas está correlacionada con su actividad supresora y su capacidad de exacerbar la patogenicidad de PVX.

SIM-66

UTILIZACIÓN DE VIGS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE GENES DEL HOSPEDADOR NECESARIOS PARA LA INFECCIÓN DEL GEMINIVIRUS *Tomato yellow leaf curl virus*, MEDIANTE EL USO DE PLANTAS TRANSGÉNICAS DE *Nicotiana benthamiana* 2IRGFP

Rosas-Díaz, T., Lozano-Durán, R., Bejarano, E.R.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-SCIC). E-mail: tabatarosas@uma.es

Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV) es un begomovirus (familia Geminiviridae) agente causal de la enfermedad del rizado amarillo del tomate. Su genoma está formado por una sola molécula circular de DNA monocatenario en la que se distinguen seis fases abiertas de lectura. Como el resto de geminivirus, TYLCSV no codifica para polimerasas de DNA ni de RNA, por lo que depende de la maquinaria celular para expresar sus genes y replicar sus genomas. Su rango de hospedadores incluye varias especies de solanáceas, entre las que se incluyen *Solanum lycopersicum* y *Nicotiana benthamiana*.

En nuestro laboratorio se ha desarrollado un sistema que permite la monitorización en el tiempo y el espacio de la infección por TYLCSV. Esta herramienta se basa en una construcción que contiene un casete para la expresión de la proteína verde fluorescente (GFP) flanqueado por dos copias de la región intergénica (IR) del virus. Las plantas transgénicas que contienen esta construcción (plantas 2IRGFP) presentan una expresión basal de GFP en todos los tejidos, que aumenta al ser infectada con TYLCSV. Este incremento es dependiente de la interacción de la proteína viral asociada a replicación Rep con las IR. Estas plantas, en combinación con la metodología de VIGS (virus-induced gene silencing), son una herramienta excelente para la identificación de genes del hospedador necesarios para el desarrollo de la infección viral mediante genómica inversa.

Nuestro sistema se validó utilizando una proteína esencial para la replicación del TYLCSV: PCNA (Proliferating cellular nuclear antigen). Se elaboró una lista de 70 genes de plantas que podrían tener un papel importante en el proceso infectivo de TYLCSV. Esta lista incluía genes candidatos que codifican para proteínas: (i) implicadas en procesos biológicos potencialmente requeridos para la infección; y (ii) cuya interacción con proteínas del virus ha sido comprobada. Actualmente se han clonado 36 de los genes candidatos en el vector de silenciamiento de TRV (*Tobacco rattle virus*) y se están probando su posible papel en la infección de TYLCSV en plantas de *N. benthamiana*. Se discutirán los resultados obtenidos hasta el momento.

**SESIÓN SIMULTÁNEA VIII:
CONTROL 2**



SIM-67

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL DEL AGENTE DE BIOCONTROL *Penicillium oxalicum* EN SUELO

Larena, I., Herranz, Y., Melgarejo, P.

Departamento de Protección Vegetal, CIT-INIA, Carretera de La Coruña 7,500, 28040 Madrid. E-mail: larena@inia.es

Penicillium oxalicum (PO) es un eficaz agente de control biológico (ACB) frente a enfermedades vasculares de tomate, sandía y melón. La eficacia de muchos ACB está relacionada con su capacidad de colonización y con el mantenimiento de niveles de población adecuados para interaccionar efectivamente con el patógeno o el huésped y proporcionar un control de la enfermedad aceptable. El estudio de la colonización requiere el desarrollo de métodos que permitan su detección y cuantificación en el ambiente. PO puede ser detectado por PCR convencional. Sin embargo, su cantidad no puede ser cuantificada exactamente ya que la eficiencia de amplificación es variable entre reacciones. Por ello planteamos optimizar una PCR en tiempo real que permita evaluar la supervivencia y persistencia de PO en el suelo.

Inicialmente, se diseñaron cebadores y sondas para la detección y cuantificación específica de PO mediante PCR en tiempo real a partir de las secuencias ITS1-5.8SrRNA-ITS2 usadas en el diseño de los cebadores específicos para PO mediante PCR convencional. Primeramente, la detección de los amplificados se hizo utilizando como marcador de fluorescencia SYBR Green. Ello permitió seleccionar una única pareja de cebadores ILPO221F/ILPO292R. Se mejoró la técnica empleando una sonda TaqMan® (ILPO242sonda). A partir de suspensiones de conidias de PO se alcanzaron sensibilidades de detección de 1 conidia/g de suelo natural. La eficiencia de la reacción de PCR en tiempo real fue superior al 95% con coeficientes de regresión (R^2) del 0,99.

Posteriormente, se llevó cabo un ensayo en macetas conteniendo 4 tipos de suelos naturales tratados con PO. Se tomaron muestras a distintos tiempos hasta 365 d. Se detectó y cuantificó PO por PCR en tiempo real y se estimó su viabilidad mediante el crecimiento en medio semiselectivo. Los resultados muestran que la PCR en tiempo real es más sensible que la PCR convencional y más específica que el crecimiento en medio semiselectivo. Así, la PCR convencional puede detectar PO hasta los 6 meses de su aplicación, y la PCR en tiempo real hasta 1 año de su aplicación. Además, no todas las colonias crecidas en medio semiselectivo fueron identificadas como PO. Por otro lado, la concentración inicial de PO en los 4 tipos de suelos antes del tratamiento varía entre 10^4 - 10^5 conidias/g de suelo. Tras la aplicación de PO, la población se incrementa hasta 10^8 y posteriormente, disminuye hasta los 365 días hasta alcanzar valores similares a los estimados antes de la aplicación. Más de un 80% de las conidias de PO cuantificadas permanecen viables en los 4 tipos de suelo.

SIM-68

PAPEL DE LAS FENGINAS PRODUCIDAS POR *Bacillus subtilis* CPA-8 EN LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE *Monilinia* spp. EN MELOCOTÓN

Yáñez, V.¹, Zerriouh, H.², Viñas, I.³, Torres, R.¹, Usall, J.¹, de Vicente, A.², Pérez-García, A.², Teixidó, N.¹

¹ IRTA Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, av Rovira Roure 191, 25198 Lleida
E-mail: viviana.yanez@irta.cat

² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora» (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, 29071 Málaga

³ Universitat de Lleida. Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, av Rovira Roure 191, 25198 Lleida

La podredumbre parda causada por *Monilinia* spp. es la enfermedad postcosecha más importante de melocotón. En Europa la aplicación de productos químicos en postcosecha no está permitida, por lo que el empleo de métodos alternativos como el control biológico resulta de especial interés. El objetivo del presente trabajo fue determinar el principal modo de acción de *Bacillus subtilis* CPA-8, bacteria efectiva en el control de *M. laxa* y *M. fructicola* en fruta de hueso. Sobrenadantes libres de células provenientes de cultivos líquidos de CPA-8 mostraron una actividad antifúngica in vitro contra ambos patógenos similar a la observada con suspensiones celulares. El análisis mediante TLC de extractos butanólicos de estos sobrenadantes reveló la producción de las principales familias de lipopéptidos conocidos en *Bacillus* (fengicinas, iturinas y surfactinas), lo que apuntaba a la antibiosis como el principal mecanismo de acción implicado en la capacidad de biocontrol de CPA-8. Ensayos de bioautografía en TLC mostraron que las fracciones correspondientes a las fengicinas eran las responsables de la actividad inhibitoria frente a *M. laxa* y *M. fructicola*. Estos resultados fueron definitivamente corroborados mediante mutagénesis dirigida a suprimir la síntesis de estos lipopéptidos en CPA-8. Los transformantes obtenidos fueron analizados inicialmente por PCR y TLC, y se seleccionaron mutantes que habían perdido la capacidad de inhibir a *M. laxa* y *M. fructicola* por su incapacidad para producir fengicinas. Los ensayos de efectividad en fruta utilizando tratamientos a base de células y sobrenadantes libres de células confirmaron que los mutantes de CPA-8 defectivos para la producción de fengicinas habían perdido su capacidad para controlar la podredumbre causada por *M. laxa* o *M. fructicola*. La fruta tratada con suspensiones celulares o sobrenadantes provenientes de los mutantes defectivos en fengicinas presentó porcentajes de podredumbre similares a los observados en el control sin tratar, mientras que los tratamientos con la cepa parental presentaban reducciones de enfermedad de hasta el 100%. Estos resultados permitieron concluir que la producción de fengicinas juega un papel muy importante en la efectividad de *B. subtilis* CPA-8 para controlar la podredumbre parda del melocotón.

SIM-69

**EFICIENCIA EN CAMPO DE VARIOS MÉTODOS DE CONTROL
NEMATODOS DEL QUISTE DE LA PATATA EN LA COMARCA
DE A LIMIA (OURENSE)**

Cabaleiro, C.¹, Pesqueira, A.M.¹, Couceiro, C.¹ Freitas, A.¹, García, L.^{2*}, Alvarez, S.²

¹ Escola Politécnica Superior, USC, Campus Universitario s/n 27002 Lugo, E-mail: cristina.cabaleiro@usc.es

² Instituto do Campo, Deputación de Ourense; ^{2*} Dirección actual: ICCA, INGACAL, Ourense

En A Limia (Ourense) la presencia desde los años 70 de *Globodera rostochiensis* y, más recientemente, de *G. pallida*, condiciona el cultivo de la patata. El uso de nematicidas y de variedades resistentes a *G. rostochiensis* ha mantenido la rentabilidad del cultivo pero son medidas poco sostenibles y la directiva 2007/33/CEE exige buscar y aplicar alternativas que no siempre son bien aceptadas porque suponen costes añadidos, pérdidas de producción o dificultades en la comercialización de nuevas variedades.

Desde 2001 se han evaluado medidas de control (nematicidas orgánicos, rotación con otras especies, solarización, biofumigación, plantas trampa) alternativas a las citadas, para conocer su eficiencia y las dificultades de aplicación práctica en la zona. Un nematicida orgánico (con extractos de derivados lácteos) consiguió niveles de control similares a los de síntesis pero como ellos no impidió que las poblaciones se incrementaran hasta 4 veces. La variedad resistente Agría funciona en la práctica como planta trampa reduciendo la viabilidad de los quistes más de un 25% pero la introducción de *G. pallida* y la proliferación de otros patógenos del suelo obligan a limitar su uso. En ensayos llevados a cabo en 2007 y 2008 la solarización fue poco efectiva por la climatología, especialmente adversa en primavera/verano esos años, pero no excepcional en Galicia. Las temperaturas alcanzadas en el suelo fueron bajas (máximas inferiores a 40 °C) y con bajadas nocturnas importantes. La biofumigación y biosolarización utilizando colza, nabiza o gallinaza, no tuvieron un efecto significativo en la disminución de viabilidad de los quistes. Las plantas trampa utilizadas (patata sensible eliminada antes de la maduración de los quistes y *Solanum nigrum*) presentan problemas de manejo y eficacia limitada; *Solanum sysimbriifolium* es la más prometedora pero presenta problemas de germinación por encharcamiento y formación de costra; en 2008, en 3 meses disminuyó en un 45% la viabilidad de los quistes en un suelo con niveles altos de infestación pero en condiciones óptimas puede llegar al 80% y sería una alternativa a tener en cuenta en combinación con otras medidas de control. La inundación del terreno en años muy lluviosos (2000/01; 2009/10) consigue reducciones de las poblaciones de hasta un 90% que en la práctica funcionan como desinfecciones periódicas del suelo. La elección de la/s medida/s de control a aplicar pasa por una correcta evaluación del nivel de infestación que varía mucho en función del/los cultivos utilizados, la parcela, el tipo de suelo, la fecha y tipo de muestreo y la climatología.

SIM-70

EL SECTOR REMOLACHERO ANTE LA DIRECTIVA DE USO SOSTENIBLE DE PLAGUICIDAS. ¿MODELO PARA OTROS CULTIVOS?

Ayala, J.¹, Omaña, J.M.¹, Ortiz, A.²

¹ AIMCRA j.ayala@aimcra.com

² NEIKER, aortiz@neiker.net

La estrategia de la UE sobre el uso sostenible de plaguicidas tiene cuatro novedades clave en la legislación: Directiva marco sobre el uso sostenible de los plaguicidas, Nuevo Reglamento para la comercialización de productos fitosanitarios, Reglamento sobre la recogida de estadísticas de productos fitosanitarios y una enmienda de la Directiva 2006/42/CE para las máquinas de aplicación de plaguicidas.

Esta comunicación se centra en la Directiva sobre la utilización sostenible de los plaguicidas, cuyo objetivo es cubrir el vacío legislativo en relación con el uso de plaguicidas en la UE, mediante el establecimiento de normas mínimas para su utilización en la Comunidad, a fin de reducir los riesgos para la salud humana y el medio ambiente.

Serán discutidos los aspectos más relevantes y específicos de la Directiva, desde el punto de vista del sector de la remolacha azucarera española, en el que están representados la industria azucarera y los agricultores. Desde el año 2003, AIMCRA ha participado en varios proyectos de experimentación y divulgación, en colaboración con las autonomías en las que el cultivo está implantado: País Vasco, La Rioja, Castilla y León y Andalucía. Como resultado de estos proyectos, se ha diagnosticado con precisión el estado del cultivo en relación a las exigencias legislativas relacionadas con la nueva Directiva. Se han abordado trabajos de investigación y de divulgación encaminados a solventar las carencias detectadas. Dichos trabajos se han integrado en planes específicos de mejora de la competitividad del sector productor.

En el ámbito de la protección del cultivo, el planteamiento está basado en la protección integrada, considerando principalmente las medidas manejables, culturales, genéticas, y químicas.

Se resumen algunos de los aspectos más relevantes, incluidas las mejoras logradas y el coste y las necesidades para alcanzarlas. En definitiva, se pretende describir un modelo que puede ser exportable a otros cultivos.

SIM-71**RESISTENCIA SISTÉMICA INDUCIDA COMO ESTRATEGIA DE CONTROL ALTERNATIVA FRENTE AL OÍDIO DE CUCURBITÁCEAS**

García-Gutiérrez, L., Zeriuoh, H., Codina, C., de Vicente, A., Pérez-García, A.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Universidad de Málaga, 29071 Málaga. E-mail: lauragg@uma.es

El oídio es una de las principales enfermedades que afectan a los cultivos de cucurbitáceas. El cultivo de melón se desarrolla principalmente en campo abierto, lo que representa una seria limitación para muchos de los agentes de control biológico actualmente diseñados frente al oídio. Para superar este inconveniente, en este trabajo nos hemos planteado la selección de bacterias que aplicadas a las raíces de plantas de melón fueran capaces de promover su crecimiento (PGPR) y proporcionar un control de la enfermedad mediante la activación de los mecanismos de defensa de la planta asociados a la resistencia sistémica inducida (ISR). Para realizar este estudio partimos de una colección de cepas de *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. y evaluamos su potencial como bacterias PGPR mediante el análisis de distintas características fenotípicas asociadas a estas bacterias. Este análisis nos permitió seleccionar 2 cepas de *Bacillus subtilis* UMAF6639 y UMAF6614, una de *Bacillus cereus* UMAF8564, y dos cepas de *Pseudomonas fluorescens* UMAF6031 y UMAF8402. Estas cepas resultaron ser promotoras de crecimiento en melón, incrementando el peso fresco en un 30%, e inductoras de resistencia sistémica frente a oídio de cucurbitáceas, proporcionando reducciones de severidad del 40%. La aplicación conjunta de algunas de las cepas seleccionadas proporcionó reducciones de enfermedad mayores a las obtenidas por cada cepa de forma independiente. Con el objeto de profundizar en los mecanismos de defensa inducidos por estas bacterias, se realizaron ensayos de inducción de resistencia en *Arabidopsis thaliana* frente a oídio (*Golovinomyces cichoracearum*), con la intención de utilizar mutantes afectados en las dos principales rutas de transducción de señales relacionadas con la defensa, las rutas del ácido salicílico y del ácido jasmónico-etileno. Los resultados muestran que las cepas seleccionadas reducen el número de conidios producidos por gramo de peso fresco de hoja cuando se inoculan con oídio. Estos resultados incrementan la necesidad de profundizar en las bases moleculares que subyacen a la acción protectora de estas cepas frente al oídio. Por esta razón, actualmente estamos estudiando la expresión de genes de melón relacionados con la defensa como los de PR-1, peroxidasas y quitinasas mediante qPCR.

* Este trabajo ha sido subvencionado por el Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2007-65340-C02-01), cofinanciado con fondos FEDER (EU).

SIM-72

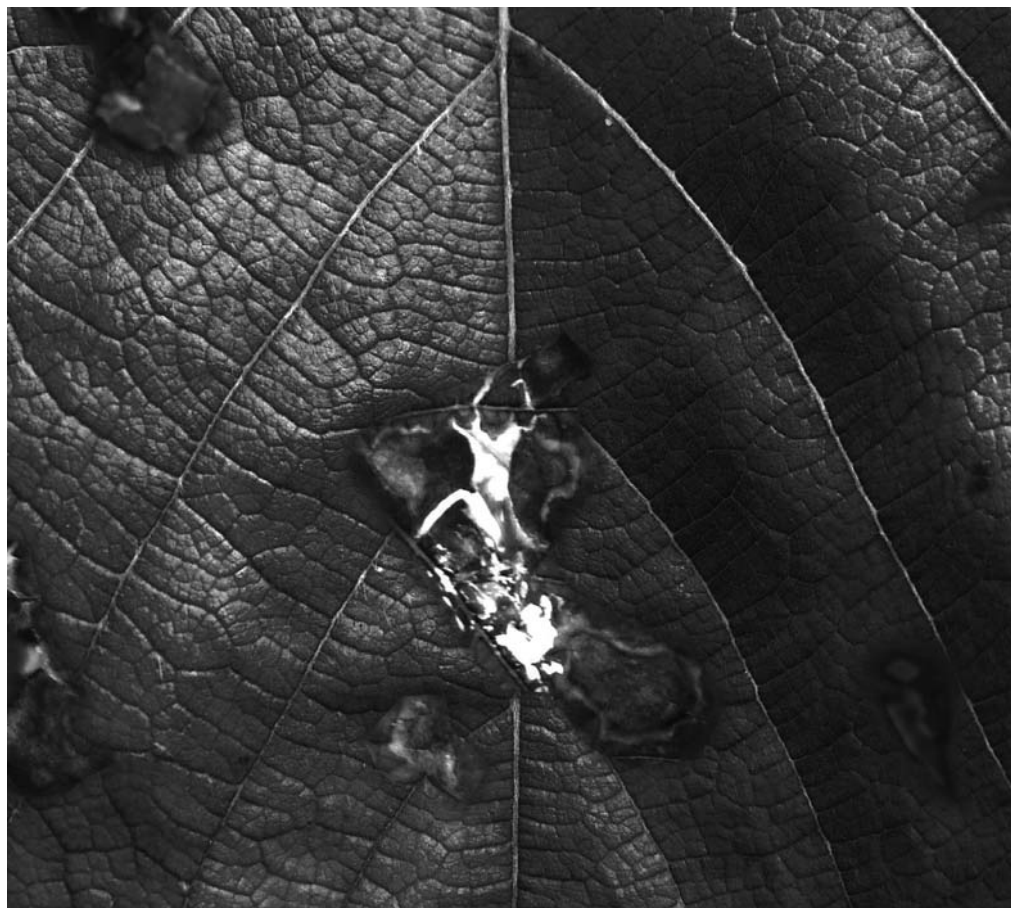
**EFFECTO DE LAS FITOHORMONAS EN LA RESISTENCIA DE PIMIENTO
FRENTE A *Botrytis cinerea* Y EN LA EXPRESIÓN DEL GEN *CaSC1***

Carballeira, R., Veloso, J., Díaz, J.

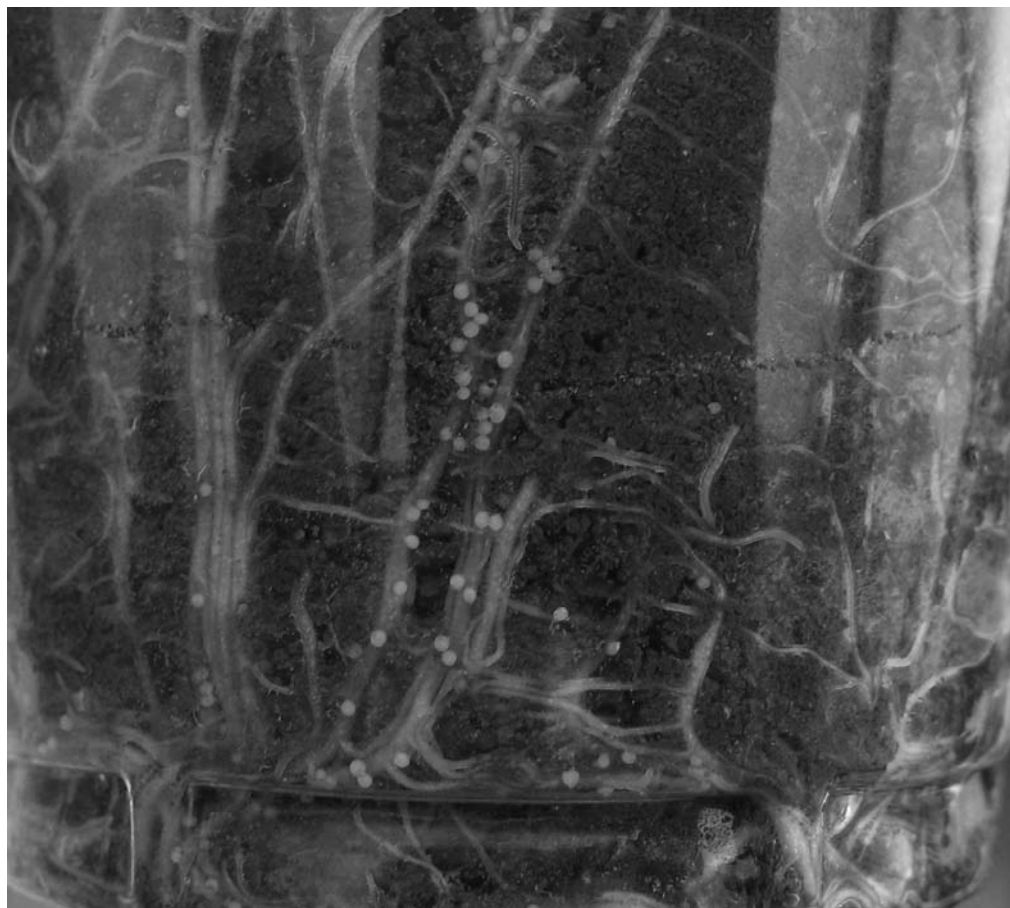
Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal e Ecología, Universidade da Coruña, c/ Alejandro da Sota, 1, 15008 A Coruña; E-mail: josefv@udc.es

El pimiento (*Capsicum annuum* L.) es una planta cultivada en muchas partes del mundo, entre ellas España, por sus frutos comestibles. Este cultivo es atacado por varios patógenos, entre los que se encuentra *Botrytis cinerea*. En otras plantas, utilizadas como modelo, como *Arabidopsis* o tomate, se han realizado estudios para comprobar la implicación de las fitohormonas en la resistencia a éste patógeno. Sin embargo, existen diferencias en las respuestas de ambas especies, y el efecto de algunas fitohormonas no ha sido ensayado. Por ello, nos hemos planteado realizar este estudio en pimiento, para comprobar su respuesta. Hemos tratado plantas de pimiento con varias hormonas e inhibidores hormonales solos o en combinaciones de dos, ensayando posteriormente la resistencia frente a *Botrytis cinerea*. En dichos ensayos, el etileno, el ácido jasmónico y el brasinólido indujeron resistencia a *Botrytis cinerea*, pero no el ácido salicílico. Estos resultados concuerdan con los descritos en la literatura en *Arabidopsis*, en la que la resistencia frente a necrotrofos como *B. cinerea* está regulada por jasmonatos y etileno, mientras que el salicilato funciona frente a biotrofos. Sin embargo, los experimentos en los que aplicamos ácido salicílico y etileno al tiempo no muestran ningún efecto antagónico en la resistencia, a diferencia de *Arabidopsis*. Por otro lado, el efecto de los brasinólidos depende de la acción del etileno, pues el inhibidor de dicha acción 1-metilciclopropeno abolió la resistencia inducida por etileno. Asimismo, hemos estudiado por qPCR la expresión de genes implicados en la defensa de la planta, y en especial *CaSC1*, que codifica para una sesquiterpeno ciclasa, clave en la síntesis de la fitoalexina capsidiol. El efecto de las hormonas en la expresión de *CaSC1* no había sido estudiado hasta ahora. Hemos comparado los estudios de expresión génica con los resultados de los bioensayos y planteamos una posible relación entre *CaSC1*, las fitohormonas y la resistencia frente a *B. cinerea*.

RESÚMENES DE PANELES



**PANELES DE
SESIÓN SIMULTÁNEA I:
PATOGENESIS
Y RESISTENCIA**



PAN-1**REDUNDANCIA FUNCIONAL ENTRE EFECTORES TIPO III
DE *Pseudomonas syringae* pv. *Phaseolicola***

Zumaquero, A., Macho, A.P., Rufián, J.S., Beuzón, C.R.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, Universidad de Málaga- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Depto. Biología Celular, Genética y Fisiología, Campus de Teatinos, 29071, Málaga. E-mail: cbl@uma.es

En *Pseudomonas syringae* el sistema de secreción tipo III es esencial para producir enfermedad en hospedadores compatibles y determina la respuesta de hipersensibilidad en hospedadores incompatibles. Los distintos patovares de *P. syringae* secretan un número variable de efectores, que constituyen su secretoma. El secretoma de *P. syringae* pv *phaseolicola* 1448a (Pph 1448a) se compone actualmente de veintisiete efectores validados experimentalmente. Este secretoma contiene los efectores HopW1-2 y AvrB4-2 que son muy similares a HopW1-1 y AvrB4-1 respectivamente. Los alineamientos de aminoácidos muestran que las secuencias de proteínas predichas de HopW1-1 y HopW1-2 son idénticas, mientras que las de AvrB4-1 y AvrB4-2 difieren en tan solo 3 aminoácidos, aumentando así la posibilidad de que esos pares de efectores tengan una potencial redundancia funcional. Siguiendo esta posibilidad, en este trabajo hemos generado dos estirpes dobles mutantes en los efectores HopW1-1 y HopW1-2, así como AvrB4-1 y AvrB4-2, y hemos analizado la virulencia de los mutantes simples y dobles, así como de estirpes expresando diferentes niveles de cada uno de los efectores desde plásmido. Demostramos que las parejas de efectores AvrB4-1/ AvrB4-2 y HopW1-1/ HopW1-2 son redundantes y contribuyen a la virulencia en judía, aunque no lo son con respecto a su capacidad de disparar resistencia en *Arabidopsis*. Además, observamos que el nivel de expresión ectópica de los diferentes efectores puede tener un importante impacto en el comportamiento de la bacteria dependiendo del efector.

PAN-2

DISTRIBUCIÓN Y EVOLUCIÓN DE UN OPERÓN IMPLICADO EN LA BIOSÍNTESIS DE LA MANGOTOXINA EN *Pseudomonas syringae*

Carrión, V.J.¹, Arrebola, E.¹, Cazorla, F.M.¹, Murillo, J.², de Vicente, A.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, 29071, Málaga. E-mail: vcarrion@uma.es

² Laboratorio de Patología Vegetal, E.T.S. de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona.

Pseudomonas syringae pv. *syringae* (Pss) UMAF0158 es una bacteria fitopatogena aislada de mango con síntomas de Necrosis Apical. Se ha demostrado que Pss UMAF0158 produce varios tipos de factores de virulencia, entre los que destaca la producción de mangotoxina. Esta toxina antimetabolito actúa en la ruta de biosíntesis de arginina inhibiendo la enzima ornitina acetiltransferasa (OAT).

En trabajos anteriores, mediante mutagénesis al azar se obtuvieron, mutantes defectivos cuyos genes afectados estaban localizados en una organización génica con estructura de operón (operón mbo) ausente en la secuencia de Pss B728a (cepa no productora de mangotoxina), cuya secuencia completa se conoce. En el presente estudio se ha desarrollado un método rápido y eficaz de detección de cepas productoras de mangotoxina por PCR, utilizando uno de los seis ORFs del operón mbo. Además se ha analizado la inserción del operón mbo, siendo el mismo en todas las cepas productoras.

Por otro lado, se ha realizado un estudio de la distribución y evolución del operón mbo, empleando dos genes esenciales para la supervivencia de Pss (genes *gyrB* y *rpoD*) de más de cincuenta cepas de diferentes patovares de *Pseudomonas syringae*. En este estudio se secuenciaron estos genes y se analizaron, llevando a cabo la construcción de los correspondientes árboles filogenéticos mediante diferentes métodos, mostrando todos ellos un mismo agrupamiento: uno de cepas no productoras y otros dos grupos que abarcan todas las cepas productoras de mangotoxina que se han analizado, uno se corresponde con las cepas aisladas en mango y otro a cepas aisladas en otros hospedadores (patovares *avellanae*, *pisi* y *syringae*). Para evaluar las diferencias presentes entre estos dos grupos de cepas productoras de mangotoxina, se secuenció el operón completo de una cepa de cada grupo, evaluándose así las diferencias entre ambos.

* Este trabajo ha sido financiado por los proyectos CICE-Junta de Andalucía Proyecto de Excelencia P07-AGR-02471 y AGL2008-05311-C02-01.

PAN-3

**ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS PLÁSMIDOS pPSV48A Y pPSV48B
DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335**

Castañeda-Ojeda, M.P.¹, Bardaji, L.², Murillo, J.², Ramos, C.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga, 29071-Málaga. E-mail: crr@uma.es

² Departamento de Producción Agraria, ETS Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, 31006-Pamplona

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (Psv) es la bacteria causante de la tuberculosis del olivo. El aislado Psv NCPPB 3335, cepa de referencia en nuestro laboratorio, contiene tres plásmidos nativos pertenecientes a la familia del plásmido pPT23A (familia PFP): pPsv48A (73 Kb), pPsv48B (45 Kb) y pPsv48C (42 Kb). Esta familia de plásmidos se caracteriza por presentar un origen de replicación cuya replicasa es homóloga a la del plásmido pPT23A, así como por codificar genes relacionados con la virulencia y supervivencia de las cepas portadoras de los mismos en su hospedador. Cepas curadas del plásmido pPsv48A o de pPsv48A y pPsv48B inducen en olivo la formación de tumores de menor tamaño que los inducidos por la cepa silvestre y que desarrollan una necrosis más temprana. La secuenciación de estos tres plásmidos, ha revelado la presencia en pPsv48A y pPsv48B de genes estructurales del sistema de secreción tipo IVA (genes *vir*) y IVB (genes *tra*), respectivamente. Además, en ambos plásmidos se han identificado genes homólogos a efectores del sistema de secreción tipo III (T3SS): pPsv48A (*hopAF1* y *hopAS1*) y pPsv48B (*hopAO1*). En pPsv48A se ha identificado también un gen implicado en la biosíntesis de citoquininas (*ptz*). Ensayos de competencia en olivo entre la cepa silvestre y la cepa curada del plásmido pPsv48A (NCPPB 3335ΔpPsv48A) han revelado que la supervivencia de NCPPB 3335ΔpPsv48A se encuentra significativamente reducida con respecto a la cepa silvestre; efecto que se ve superado con la complementación del gen *ptz* en la cepa curada. Con el objetivo de profundizar en el papel en virulencia de los genes identificados en estos dos plásmidos, en la actualidad se llevan a cabo los siguientes abordajes: 1) análisis de la translocación *in vivo* de los efectores identificados a través del T3SS, 2) construcción de mutantes de pérdida de función en el gen *ptz* y en cada uno de los genes homólogos a efectores del T3SS identificados, 3) análisis de la virulencia en olivo de los mutantes obtenidos y, 4) visualización de la colonización de olivo por los mutantes obtenidos, marcados con la proteína verde fluorescentes (GFP), en comparación a la cepa silvestre.

* Proyecto financiado por el MICINN AGL2008-05311-C02 (01 y 02), cofinanciado por FEDER.

PAN-4

**NUEVAS PERSPECTIVAS EN LA BIOSÍNTESIS DEL ÁCIDO INDOL
3-ACÉTICO (IAA) Y DE SU CONJUGADO IAA-LYS EN *Pseudomonas
savastanoi* pv. *savastanoi* Y *Pseudomonas syringae* pv. *tomato***

Aragón, I.M., Matas, I.M., Ramos, C.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora»,
Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga,
Campus de Teatinos s/n, 29071; E-mail: crr@uma.es

La formación de tumores en olivo por la infección de *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), agente causal de la tuberculosis del olivo, es dependiente de la biosíntesis de la fitohormona IAA. En *P. savastanoi*, la conversión de L-triptófano (L-Trp) a IAA tiene lugar en dos pasos catalizados por la L-Trp monooxigenasa (codificada por el gen *iaaM*), que transforma el L-Trp en indolacetamida (IAM), y la IAM-hidrolasa (codificada por el gen *iaaH*), enzima que cataliza la transformación de IAM en IAA. En esta bacteria, el IAA puede conjugarse con el aminoácido L-Lisina (L-Lys) dado lugar al 3-indol-acetil- ϵ -L-Lys (IAA-Lys), mediante la acción del gen *iaaL*. En Psv y *P. savastanoi* pv. *nerii*, los genes *iaaM* e *iaaH* se organizan en un operón, localizándose el gen *iaaM* en primera posición. Aunque algunas cepas de Psv codifican una copia de estos 3 genes en un plásmido, la mayoría de las cepas aisladas de olivo presentan dos copias cromosómicas de cada uno de ellos. La secuenciación del genoma de la cepa Psv NCPPB 3335 (ver resumen presentado por I. Matas et. al.), ha revelado que una de las copias de cada uno de los genes *iaa* presentes en esta cepa podría ser un pseudogen. Además, el análisis del entorno génico y de la expresión de los dos genes parálogos *iaaL*, previamente denominados *iaaL*_{Psn} e *iaaL*_{Psv}, ha revelado que ambos se organizan en un operón junto con un gen que codifica un transportador putativo perteneciente a la familia MATE (gen *matE*), siendo dicho transportador el primer gen del operón. *P. syringae* pv. *tomato* (Pto) DC3000 también contiene una copia de este operón. En ambas cepas bacterianas, el extremo 3' de la región codificante de los genes *matE* contiene una secuencia «Hrp-Box», similar a la presente en los promotores de *P. syringae* activados por el factor sigma HrpL. Además, corriente abajo del operón *matE-iaaL*_{Psn} hemos localizado una secuencia que muestra una identidad elevada con la de un efector del sistema de secreción tipo III (T3SS) presente en algunas cepas de *P. syringae*. Con el objetivo de profundizar en el posible papel de todos estos genes en la virulencia de Psv y Pto, actualmente estamos llevando a cabo las siguientes líneas de trabajo: 1) Amplificación y confirmación de la secuencia de los posibles pseudogenes *iaa*; 2) Construcción de mutantes dirigidos en cada uno de los genes *matE* e *iaaL* presentes en ambas bacterias; 3) Análisis del transporte de compuestos antimicrobianos a través de los transportadores MatE identificados y; 4) Estudio de la funcionalidad de las secuencias «Hrp-box» y del efector putativo del T3SS anteriormente mencionados.

* Proyecto financiado por el MICINN AGL2008-05311-C02-02, cofinanciado por FEDER, y la Junta de Andalucía P08-CVI-03475.

PAN-5

ESTRUCTURA POBLACIONAL Y ANÁLISIS DE VIRULENCIA DE *Burkholderia ambifaria*, UN NUEVO PATÓGENO DE LA CEBOLLA

Jacobs, J. L., McGrath, M., Thiel, B.E., Sundin, G. W.

Department of Plant Pathology, Michigan State University, East Lansing, Michigan 48895, USA. E-mail: jacobs90@msu.edu

El complejo *Burkholderia cepacia* comprende 17 especie conocidas, las cuales son patógenas oportunistas de seres humanos con fibrosis quística (FQ). *Burkholderia ambifaria*, un miembro de este complejo, se aísla rutinariamente del suelo asociado con la rizosfera de plantas cultivadas y ha demostrado un gran potencial como agente de biocontrol frente a varios patógenos fúngicos. Aunque se ha aislado un cierto número de cepas de *B. ambifaria* de pacientes con FQ, no se tenía a este organismo por patógeno vegetal. En 2004 se obtuvieron 623 aislados de *B. ambifaria* de la rizosfera de cebolla y suelos orgánicos en campos comerciales de producción de cebolla. Un ensayo de patogenicidad en cebolla reveló que el 76% de estos aislados de *B. ambifaria* indujo reblandecimiento y aguachado en catáfilas de cebolla. También se aisló *B. ambifaria* de cebollas almacenadas con síntomas de la enfermedad de la piel ácida. En otro muestreo diferente en 2007, se aisló *B. ambifaria* de la rizosfera de cebolla, maíz y soja en un campo que había permancido en barbecho los tres años previos. En total, se obtuvieron e identificaron 1.592 aislados. El estudio de una parte de éstos no encontró ninguno patogénico para cebolla. Mediante PCR, se detectaron dos genes diferentes de poligalacturonasa (*pehA*) en esta colección de aislados. Sin embargo, sólo uno de ellos estaba presente en todos los aislados patogénicos para cebolla. Este gen era muy similar al *pehA* de *B. cepacia*, el agente etiológico clásico de la piel ácida, que se supone responsable del reblandecimiento del tejido. La función del segundo gen *pehA* no se conoce actualmente. Un análisis multilocal de secuencias de todos los aislados de *B. ambifaria* mostró que las cepas patógenas para cebolla presentaban tipos de secuencias multiplocales particulares. Estos resultados sugieren que las cepas de *B. ambifaria* patógenas para cebolla constituyen poblaciones diferentes de otras *B. ambifaria* ambientales.

PAN-6

ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A LOS EUROPEAN STONE FRUIT YELLOWS DE DISTINTAS VARIEDADES Y ESPECIES DE CIRUELO

Batlle, A.¹, Torres, E.², Sabaté, J.¹, Bech, J.², Laviña, A.¹

¹ Dpt. Patología Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. IRTA. 08348 Cabrils, Barcelona. ²Laboratori de Sanitat Vegetal. DAR. Generalitat de Catalunya. 08040 Barcelona

Para las especies del genero *Prunus* se han citado importantes diferencias de susceptibilidad frente al fitoplasma, *Candidatus Phytoplasma prunorum*, causante de los European stone fruit yellows (ESFY), así el albaricoquero (*Prunus armeniaca*), los ciruelos japoneses (*Prunus salicina*) y el melocotonero (*Prunus persicae*), son más susceptibles que el *Prunus cerasifera* (Myrabolan) y que el ciruelo europeo *Prunus domestica*. Uno de los medios para evitar o minimizar los daños producidos por las enfermedades causadas por fitoplasmas es disponer de material vegetal resistente o tolerante.

Los objetivos de este trabajo fueron, por un lado determinar si la mayor tolerancia a la enfermedad de determinadas especies y/o variedades está relacionada con una menor concentración fitoplasmática, o si por el contrario la respuesta de tolerancia es independiente de la multiplicación del fitoplasma en el árbol. Para ello, la técnica de la PCR a tiempo real se ha utilizado para determinar la concentración fitoplasmática en árboles de distintas especies y variedades de ciruelo, infectadas por *Ca.P.prunorum*, así como entre árboles de una misma especie y variedad que muestren diferencias en la severidad de síntomas. La finalidad del trabajo es tratar de identificar respuestas de resistencia, bien de determinadas variedades o especies o bien en árboles de una misma especie. Los resultados obtenidos en la cuantificación de fitoplasmas mediante Real time PCR, en muestras de árboles infectados por el fitoplasma y pertenecientes a distintas variedades de *Prunus salicina*, mostraron que la concentración fitoplasmática dependía de la variedad. La variedad 'Pioneer' presentaba la mayor concentración. El porcentaje detectado y la estimación de la concentración fitoplasmática era menor en *Candidatus Phytoplasma prunorum*. 'Fortune' y '606', no pudiéndose en el caso del ciruelo japonés, relacionar la menor concentración de fitoplasmas con una menor expresión de síntomas.

Los resultados de susceptibilidad/tolerancia en ciruelo europeo y myrabolan se están evaluando actualmente.

* Trabajo financiado con el proyecto INIA RTA09-075.

PAN-7

EXPRESIÓN DE UNA SESQUITERPENO CICLASA (CaSC1) EN PLANTAS DE PIMIENTO OBTENIDAS EN UN PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DE LA RESISTENCIA FRENTE A *Phytophthora*

Veloso, J.¹, Carballeira, R.¹, Rivera, A.², Taboada, A.², Moreno, J.², Andrés, J.L.², Ascasióbar, J.³, Díaz, J.¹

¹ Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal e Ecología, Universidade da Coruña, c/ Alejandro da Sota, 1, 15008 A Coruña E-mail: josefv@udc.es

² Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, Xunta de Galicia, Carretera de Betanzos a Mesón do Vento Km. 8. 15309 Abegondo (Mabegondo). A Coruña

³ Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia, Xunta de Galicia, Carretera de Betanzos a Mesón do Vento Km. 8. 15309 Abegondo

Phytophthora capsici y *P. nicotianae* son dos oomicetos patógenos de pimiento cuya presencia ha sido detectada en Galicia en los últimos años. Aunque existen productos que permiten su control químico, es de esperar que puedan aparecer formas resistentes, por lo que el desarrollo de otros métodos de control se hace necesario, especialmente aquellos respetuosos con el medio ambiente. El Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo ha desarrollado un programa de mejora genética para obtener plantas resistentes a ambos patógenos, mediante el cruzamiento de una línea resistente, SCM334, con los cultivares Padrón y Couto, característicos de la Comunidad Autónoma de Galicia. En el presente trabajo se han comparado cuatro líneas híbridas, dos resultado del cruzamiento con Padrón (3F₂21 y 3F₃21) y dos del cruzamiento con Couto (5F₂19 y 5F₃19). Tras inocular tanto las líneas híbridas como los correspondientes parentales con *P. capsici*, se han determinado la severidad de los síntomas, el grado de colonización por PCR cuantitativa en Tiempo Real y los niveles de expresión del gen CaSC1 por RT-PCR cuantitativa en Tiempo Real. CaSC1 codifica para una sesquiterpeno ciclasa implicada en la síntesis de la fitoalexina capsidiol, y previamente se ha correlacionado con la resistencia a *P. capsici* en trabajos anteriores de nuestro grupo de investigación^{ab}.

^a Silvar, C., Merino, F. & Díaz, J. 2008. J. Plant Physiol. 165: 1120-1124.

^b Silvar, C., Merino, F. & Díaz, J. 2009. Plant Biol. 11: 68-74.

* El presente trabajo ha sido financiado por el INIA (RTA2007-00062-C02).

PAN-8

EVALUACIÓN EN CAMPO DE PATRONES DE VID INOCULADOS CON HONGOS ASOCIADOS A LA ENFERMEDAD DE PETRI Y LA YESCA

Gramaje, D., García-Jiménez, J., Armengol, J.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: jarmengo@eaf.upv.es

Se evaluó la susceptibilidad de 5 patrones de vid (41 B Millardet-Grasset, 140 Ruggeri, 161 49 Couderc, 1103 Paulsen y 110 Richter) a la infección causada por hongos asociados a la enfermedad de Petri y la yesca. Para ello, en marzo de 2008 se inocularon varetas de estos patrones con suspensiones de conidios (10^4 ó 10^6 conidios mL^{-1}) de un aislado de los patógenos *Cadophora luteo-olivacea*, *Phaeomoniella chlamydospora* y 5 especies del género *Phaeoacremonium* (*Pm. aleophilum*, *Pm. mortoniae*, *Pm. parasiticum*, *Pm. scolyti* y *Pm. viticola*). Se inocularon 40 varetas por combinación de patrón/hongo/concentración de conidios y el experimento se repitió 2 veces. En marzo de 2008, las varetas inoculadas fueron plantadas en dos campos donde nunca se había cultivado vid mediante un diseño en bloques al azar. Las prácticas culturales se realizaron de acuerdo a las pautas habituales seguidas en vivero. En julio de 2008, se estimó la proporción de plantas brotadas. En enero de 2009, cuando el material vegetal estaba en latencia, se evaluó el peso seco de los sarmientos. Asimismo, se cortaron transversalmente las varetas a 10 cm de la zona basal de la planta y se estimó la severidad de la enfermedad midiendo el porcentaje de necrosis vascular en una escala de 0 (sano) a 4 (100%). Todos los hongos causaron una reducción significativa en la brotación y el peso de los sarmientos, así como un incremento en la severidad de la enfermedad exceptuando el patrón 161 49 C. Los síntomas más severos se observaron en los patrones 110 R y 140 Ru. En general, *Pa. chlamydospora* y *Pm. parasiticum* causaron la mayor reducción en la brotación y peso de los sarmientos, así como la mayor severidad de la enfermedad. En la mayoría de patrones inoculados con *Pa. chlamydospora* los análisis de regresión mostraron una correlación positiva entre la proporción de plantas que brotaron en primavera y la severidad de la enfermedad, así como entre el peso de los sarmientos y la severidad de la enfermedad.

PAN-9

**SUSCEPTIBILIDAD DE PATRONES DE VID
A *Cylindrocarpon liriodendri* Y *C. macrodidymum***

Alaniz, S.¹, García-Jiménez, J.², Abad-Campos, P.², Armengol, J.²

¹ Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, CO 12900, Montevideo, Uruguay

² Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022-Valencia. E-mail: jarmengo@eaf.upv.es

Se evaluó la susceptibilidad de los patrones de vid más comúnmente utilizados en España frente a *Cylindrocarpon liriodendri* y *C. macrodidymum*, agentes causales del pie negro de la vid. Varetas enraizadas de los patrones 110-R, 1103-P, 140-R, 161-49C, 196-17C, Fercal y SO4 fueron inoculadas mediante inmersión de las raíces en suspensiones de conidios (5×10^5 conidios mL⁻¹) de un aislado representativo de cada una de las especies de *Cylindrocarpon* durante 30 minutos. Las varetas se plantaron inmediatamente en macetas individuales y se incubaron en invernadero junto con los correspondientes controles sin inocular. Se inocularon un total de 8 varetas por patrón y patógeno. El experimento se realizó dos veces. Un mes después de la inoculación cada planta se regó nuevamente con 20 mL de una suspensión similar de conidios para garantizar la infección de las raíces. Cuatro meses después de la primera inoculación, en cada planta se evaluó el índice de severidad de la enfermedad en la raíz (ISER) que estimaba la reducción del volumen de las raíces y la presencia de necrosis, y el peso seco de la parte aérea y de las raíces. La variable ISER, fue la más adecuada para mostrar el efecto de la inoculación con ambos aislados. En general, todos los portainjertos se vieron afectados por la inoculación con ambas especies en algún grado, mostrando daños en raíces y disminución de peso seco de la parte aérea, siendo el portainjerto 110-R el más susceptible.

PAN-10

COMBINACIÓN DE FACTORES ABIÓTICOS Y BIÓTICOS QUE INFLUYEN EN EL DEBILITAMIENTO DE *Pinus halepensis* EN ESPAÑA

Botella, L.¹; Santamaría, O.²; Díez, J.J.¹

¹ Dpto. Producción Vegetal y Recursos Forestales. Instituto de Gestión Forestal Sostenible-INIA-UVa. Avda. Madrid 57. 34071, Palencia. E-mail: lbotella@pvs.uva.es; jdcasero@pvs.uva.es

² Dpto. Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal, Universidad de Extremadura, Ctra. Cáceres s/n, 06007, Badajoz. E-mail: osantama@unex.es

La riqueza y composición de especies fúngicas de acículas y ramillos fueron estudiadas en 55 masas de *Pinus halepensis* distribuidas por toda la Península Ibérica. El objetivo principal fue evaluar la relación existente entre las comunidades de hongos y las variables ambientales locales para así determinar las causas potenciales de la actual situación de decaimiento del pino carrasco en nuestro país. Un total de 35 taxones fueron aislados de 1980 cámaras húmedas (990 por tipo de material vegetal). *Alternaria alternata* complex fue el taxón más abundante, seguido de *Leptostroma pinastri*, *Aspergillus niger*, *Diplodia pinea* y *Phomopsis* sp. A nivel de árbol, el tejido resultó ser una variable respuesta significativa, siendo la riqueza de especies mayor en acículas que en ramillos. Por otro lado, a nivel de parcela, el análisis multivariante demostró que las variables ambientales 'edad', 'elevación', 'temperatura media', 'iluminación' y 'disponibilidad de agua' influyeron significativamente sobre la composición de especies. Concretamente, la 'temperatura media' parecería estar implicada en el debilitamiento general de esta especie termófila puesto que apareció inversamente relacionada con la presencia de hongos fitopatógenos como *Brunchorstia pinea*, *Diplodia pinea*, *Naemacyclus niveus*, *Pestalotiopsis stevensonii* y *Sclerophoma pythiophila*. Este estudio demuestra que el efecto combinado de estrés abiótico y biótico estaría implicado en gran medida en el debilitamiento del pino carrasco en España.

PAN-11

EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE ALISO A *Phytophthora alni* y OTRAS ESPECIES DEL GÉNERO

Haque, M. M.,¹ Pérez-Sierra, A.² and Díez, J.J.¹

¹ Producción Vegetal y Recursos Forestales-Instituto de Gestión Forestal Sostenible INIA-Uva. Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, Spain. E-mail: mhaque@pvs.uva.es

² Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

En este ensayo se testó la susceptibilidad de semillas y plántulas jóvenes de aliso común (*Alnus glutinosa*) al patógeno *Phytophthora alni* y otras especies del mismo género (*P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* and *P. palmivora*). Para el ensayo se emplearon dos aislados de *P. alni* recientemente encontrados en España y otros cuatro pertenecientes al resto de especies. La inoculación de las semillas y las plántulas se realizó mediante suspensiones de zoosporas y fragmentos de micelio. La susceptibilidad del hospedante se evaluó observando la germinación de las semillas y la viabilidad de las plántulas. El ensayo se llevó también a cabo para determinar la especificidad de cada una de las especies del patógeno aplicadas.

PAN-12

PATENTE DE PATRONES DE AGUACATE TOLERANTE-RESISTENTES A LA PODREDUMBRE DE RAÍZ CAUSADA POR *Phytophthora cinnamomi* Rands

Gallo Llobet, L.¹, Domínguez Correa, P.¹, Siverio, F.², Rodríguez Pérez, A.^{1,3}

¹ Dpto. Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Apdo. 60, 38200 La Laguna, Tenerife

² Sección de Laboratorio de Sanidad Vegetal. Carretera del Boquerón s/n. Valle de Guerra. Apdo. 20, 38270 La Laguna, Tenerife

³ Dpto. Microbiología y Biología Celular. Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna. 38207 La Laguna, Tenerife

A lo largo de 30 años en el ICIA se ha mantenido un programa de selección para la obtención de patrones tolerante-resistentes a *Phytophthora cinnamomi*. Como resultado de dicha selección se han patentado cuatro patrones: uno a nivel internacional de raza antillana y tres a nivel nacional, dos de ellos de raza antillana y uno híbrido de raza antillana x guatemalteca.

La selección se llevó a cabo: a) utilizando plántulas de aguacate en un tanque con solución nutritiva inoculada con el hongo *Phytophthora cinnamomi* según el método descrito por Zentmyer y Mircetich (1960) para testar los patrones obtenidos en California como tolerante-resistentes, y b) sembrando plántulas en tierra infestada de forma natural.

Las plantas que superaron dicho test se plantaron en una parcela con alto grado de infección desde hace más de 30 años, con polinización abierta. Las plantas de mejor comportamiento frente a la infección se clonaron por el método de Frolich y Platt (1972) y se reevaluaron en distintos experimentos usando como control los patrones Duke 7 y Thomas (tolerantes a *Phytophthora cinnamomi* y Topa-Topa (susceptible a *Phytophthora cinnamomi*), hay que destacar el estrés salino al que las plantas han estado sometidas durante el desarrollo de los ensayos.

Después de varios años de evaluación se han seleccionado y patentado cuatro patrones tolerante-resistentes a *Phytophthora cinnamomi* bajo los nombres «J.Gallo1, Gallo2, Gallo3 y Gallo4». Todos ellos se testaron para Sunblotch y están libres de dicho viroide, además se testaron para salinidad, tanto frente al sodio como a los iones cloruro, y son altamente tolerantes.

PAN-13

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *Verticillium dahliae* DE CULTIVARES DEL BANCO MUNDIAL DE GERMOPLASMA DE OLIVO

Birem, F.¹, Mohammad, F.¹, Del Río, C.², Caballero, J. M.², Blanco-López, M., A.¹, and López-Escudero, F.J.¹

¹ Dpto. de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C-4, 14071, ² IFAPA, CIFA Alameda del Obispo, Apdo. 3092, 14080, Córdoba. E-mail: ag2loesj@uco.es

Se ha evaluado la resistencia al aislado defoliante de *Verticillium dahliae* de 17 cultivares de olivo del Banco Mundial de Germoplasma de Olivo de Córdoba. Los experimentos se realizaron en cámara de ambiente controlado (Exp I) (8 cultivares) o en invernadero (Exp II) (9 cultivares), incluyendo como controles a 'Picual' (susceptible) y 'Frantoio' (moderadamente resistente). La inoculación tuvo lugar por inmersión radical en una suspensión de 10⁷ conidias/ml del patógeno. El área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPEP), calculada a partir de la severidad de síntomas estimada mediante una escala 0-4, fue el principal parámetro para evaluar resistencia. Además, el porcentaje de plantas muertas (PPM), el valor de severidad media final de síntomas (SMF) y la recuperación de la enfermedad se usaron como parámetros complementarios para asignar el nivel de resistencia al cultivar.

Los daños por trasplante por el proceso de inoculación fueron nulos en el Exp II, pero ocasionaron en el Exp I una mortalidad media del 35.7% de las plantas, siendo particularmente elevados en «Carrasqueño de Alcaudete», «Gordal Sevillana» y «Lechín de Sevilla», que se evaluaron de nuevo mediante el método alternativo por inyección al tronco. Los síntomas de la enfermedad comenzaron a las 4-5 semanas después de la inoculación (sdi) en el Exp I, y algo más retrasados (7 sdi) en el Exp II. La defoliación en verde fue muy frecuente en ambos experimentos, siendo de ligera a moderada al principio, e intensificándose con el tiempo, particularmente en 'Manzanilla de Sevilla', 'Nevado Azul', y 'Mollar de Cieza'. La clorosis también fue un síntoma muy común, particularmente en el Exp II en 'Llumeta', 'Nevado Azul' y 'Rapasayo', y el más precoz junto a la marchitez y flacidez de hojas; pero sólo fue muy ligera en 'Redondilla de Logroño' y 'Frantoio'. La reacción de 'Picual' fue la esperada en ambos experimentos. Los síntomas desarrollados por 'Frantoio', que suelen ser ligeros en cámara, fueron en invernadero (Exp II) casi imperceptibles. El nivel de resistencia de los cultivares evaluados ('Arbequina', 'Arbosana', 'Blanqueta-48', 'Carrasqueño de Alcaudete', 'Farga', 'Gordal Sevillana', 'Koroneiki' y 'Lechín de Sevilla', en el Exp I; y 'Llumeta', 'Lucio', 'Luques', 'Manzanilla de Jaén', 'Mollar de Cieza', 'Nevado Azul', 'Picholine Marrocaïne', 'Rapasallo' y 'Redondilla de Logroño', en Exp II) fue algo variable, aunque siempre correspondiente a reacciones de susceptibilidad o extremada susceptibilidad, con incidencias del 100%, valores de ABCPE siempre por encima del 50%, y PPM del 60-100% en 12 de los cultivares evaluados.

PAN-14

**MEJORA DE LOS MÉTODOS DE INOCULACIÓN DE ACEBUCHÉ
CON *Verticillium dahliae***

Trapero, C., Barranco, D., Rallo, L., López-Escudero, F.J.

Dpto. de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C-4, 14071, Córdoba. E-mail: g32trrac@uco.es

Recientemente, la obtención de material vegetal resistente a la Verticilosis del olivo (VO), causada por *Verticillium dahliae*, se ha incorporado como un nuevo objetivo al programa de mejora en olivo iniciado en 1991 por la Universidad de Córdoba-IFAPA. La selección para resistencia a la VO es un proceso largo, y precisa de la evaluación de un elevado número de genotipos en experimentos de inoculación, que suelen ser muy laboriosos y consumen gran cantidad de espacio y tiempo. En este trabajo se compara la eficacia de métodos de inoculación sobre diferente material vegetal de acebuche de corta edad para identificar resistencia en un número elevado de genotipos.

En un primer experimento se inocularon estaquillas de 6 meses de edad, enraizadas bajo nebulización en un vivero comercial, de 108 genotipos de acebuche prospectados en Andalucía en Mayo-Junio de 2008. Las raíces desnudas de las plantas (3 por genotipo), se sumergieron y se untaron en una masa de inóculo ($2.9 \cdot 10^6$ conidias/cm³) procedente del batido de placas de patata dextrosa agar (PDA) en las que había crecido durante 7 días un aislado defoliante del patógeno. A continuación las plantas se trasplantaron a macetas estériles con suelo estéril y se trasladaron a una cámara de ambiente controlado, donde se dispusieron en 3 bloques. Como controles se inocularon plantas de 'Picual' (susceptible) y 'Frantoio' (moderadamente resistente). Los síntomas se evaluaron semanalmente mediante una escala de 0 a 4. Los daños por trasplante fueron moderados (en el 46% de los genotipos, al menos 1 planta muerta). Los síntomas de la enfermedad fueron consistentes, observándose éstos en el 88% de los genotipos. Una de las ventajas de este método de evaluación es su solidez, ya que se evalúan individuos con varias repeticiones.

Por otra parte, se ensayaron dos métodos de inoculación en plántulas de acebuche de semilla de corta edad: inmersión de la raíz desnuda en una suspensión de conidias (10^7 conidias/ml, del mismo aislado defoliante) y posterior trasplante; y la inyección al tallo de la misma suspensión de conidias. La inmersión de raíces resultó el método más eficaz, ya que con la inyección al tallo hubo un porcentaje elevado de escapes. La evaluación de la enfermedad fue análoga a la descrita anteriormente. Los daños por trasplante fueron muy ligeros. El 65% de las 142 plántulas inoculadas mostraron síntomas de la enfermedad, lo que demuestra que las plántulas de semilla de olivo de corta edad pueden ser infectadas consistentemente. Pese a carecer de la solidez del primer método mencionado, la inmersión de raíces de plántulas permite la evaluación precoz de un número elevado de individuos.

PAN-15

**SELECCIÓN DE PROGENIES DE OLIVO POR SU RESISTENCIA
A *Verticillium dahliae***

Trapero, C., Muñoz-Díez, C., Rallo, L., López-Escudero, F.J., Barranco, D.

Dpto. de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C-4, 14071, Córdoba. E-mail: g32trrac@uco.es

La verticilosis del olivo, causada por el hongo *Verticillium dahliae*, es la enfermedad más importante que afecta a este cultivo actualmente en España y en los países de la cuenca Mediterránea. El empleo de variedades o patrones resistentes es una de las medidas más eficaces para el control de la enfermedad. Dichas causas han motivado que la obtención de material vegetal resistente a la verticilosis del olivo se haya incorporado como un nuevo objetivo al programa de mejora en olivo iniciado en 1991 por la Universidad de Córdoba-IFAPA. La especie *Olea europaea* presenta una gran variabilidad genética, lo que puede ser muy útil en la búsqueda de resistencia a la enfermedad. Para conseguir este objetivo, el primer paso es la evaluación de un gran número de genotipos de olivo por su resistencia a *V. dahliae*.

Se evaluaron en condiciones controladas más de 2000 plántulas de semilla procedentes de cruzamientos y polinización libre, procedentes tanto de variedades cultivadas de olivo como de acebuche. La inoculación se realizó mediante inmersión de las plántulas, de dos meses de edad, a raíz desnuda en una suspensión de conidias (10^7 conidias/ml) de un aislado defoliante del patógeno. Los síntomas (defoliación, marchitez, clorosis y necrosis) se evaluaron semanalmente mediante una escala de 0 a 4. Los resultados demostraron que las plántulas de semilla de olivo pueden infectarse desde muy jóvenes con *V. dahliae*, observándose síntomas graves y consistentes. Se determinó una amplia variabilidad en la respuesta a la enfermedad entre las distintas progenies de olivo evaluadas.

Los resultados también aportan información acerca de la herencia de la resistencia, así como genitores adecuados para la mejora por resistencia a la verticilosis en el olivo. Numerosos genotipos de olivo se han seleccionado por su resistencia, y próximamente serán evaluados en condiciones de campo. La evaluación y selección de nuevos genotipos de olivo y acebuche va a continuar con el objetivo de obtener patrones o variedades resistentes a la verticilosis.

PAN-16

**CARACTERIZACIÓN DE LA VIRULENCIA DE *Colletotrichum acutatum*
AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO**

Xaviér, C.J., Moral, J., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

La Antracnosis del olivo está causada por tres especies del género *Colletotrichum*, *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* y *C. simmondsii*, siendo dominante la primera de ellas. La población del patógeno en Andalucía muestra una elevada especialización patogénica en olivo y una notable uniformidad genética perteneciendo a la especie *C. acutatum*. Cabe esperar que una población del patógeno constituida por una sola especie (*C. acutatum*) y con una elevada especialización patogénica esté constituida por grupos de virulencia (razas). Aunque en el caso del olivo nunca ha sido estudiada esta hipótesis.

En 2008, aceitunas sanas en enero de dos cvs. resistentes (Frantoio y Picual), uno moderadamente susceptible (Arbequina) y dos susceptibles (Galega vulgar y Hojiblanca) fueron inoculados de forma independiente con 8 aislados de olivo de *C. acutatum*. Además, se inocularon frutos maduros del cv. Empeltre con los mismos aislados. Durante 2010, los mismos cultivares fueron inoculados con otros 8 aislados de *C. acutatum* de olivo. En este caso, los frutos del cv. Picual se inocularon maduros.

En ambos experimentos, los primeros síntomas (aceitunas con podredumbre jabonosa) se observaron a la semana de la inoculación en los cvs. Galega Vulgar y Hojiblanca. En ambos experimentos el cultivar, el aislado y su interacción fue significativa. En general, para el conjunto de las inoculaciones el cv. Frantoio fue el más resistente y 'Galega Vulgar' el más susceptible. El cv. Arbequina mostró extremos de comportamiento en función del aislado utilizado. Entre los aislados también se observaron diferencias muy acusadas de virulencia siendo el menos virulento, en ambos años, un aislado (COL116) procedente de Italia.

En este trabajo se pone de manifiesto por primera vez la existencia de variantes patogénicas (razas) en la población de *C. acutatum* que afecta al olivo. Los estudios de razas patogénicas en el género *Colletotrichum* son muy escasos y supeditados a cultivos herbáceos como judía y maíz. En olivo, sólo se han detectado grupos de virulencias en el Repilo causado por *Fusicladium oleagineum*.

PAN-17

**PATOGENICIDAD DE AISLAMIENTOS LOCALES DE *Botrytis cinerea*,
Rhizoctonia solani, *Sclerotinia sclerotiorum* Y *Trichothecium roseum*
SOBRE TRES VARIEDADES DE ALUBIA DE LEÓN**

Campelo, M. P.¹, Casado, R. A.², Lorenzana, A.¹, Casquero, P. A.¹, Reinoso, B.¹, González, A. J.³

¹ Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias. E.S.T.I.Agraria. Universidad de León. Avda. de Portugal, 41. 24071 León

² Laboratorio de Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales. E.S.T.I.Agraria. Universidad de León. Avda. de Portugal, 41. 24071 León

³ Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Ctra. de Oviedo, s/n. 33300 Villaviciosa. Asturias. E-mail: piedad.campelo@gmail.com

El cultivo de alubia (*Phaseolus vulgaris* L.) en León se ve afectado por numerosas micosis transmitidas por semilla, siendo algunas de las más frecuentes la podredumbre gris, producida por *Botrytis cinerea* Pers. (BC), la rizoctoniosis, producida por *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn. (RS), y la podredumbre blanca, producida por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (SS). En estudios previos, realizados para conocer la micoflora presente en semillas de las variedades locales Riñón-menudo, Canela y Pinta, se obtuvieron aislamientos de los agentes causales de estas tres enfermedades así como de *Trichothecium roseum* (Pers.) Link (TR), considerado patógeno de debilidad. En este trabajo se presentan los resultados de los experimentos realizados para evaluar comparativamente la incidencia de siete aislamientos locales de estos hongos (BC-1, BC-2, RS-1, RS-2, SS-1, SS-2 y TR-1) sobre el desarrollo vegetativo de plantas de las tres variedades mencionadas. El ensayo se realizó en cámara de cultivo (16 horas de luz, temperatura día-noche: 25 °C/16 °C, humedad relativa día-noche: 50%/80%), con 40 semillas desinfectadas y libres de *Potyvirus*, dispuestas en macetas con sustrato estéril como unidad experimental y un diseño factorial incluyendo testigos. Transcurridos 40 días, se recogieron las plantas y se obtuvo el peso húmedo y seco (72 horas a 80 °C) de la parte aérea y de la radicular. De los resultados cabe destacar que para todos los parámetros se observaron diferencias significativamente menores ($P < 0,05$) entre las plantas inoculadas con los siete aislamientos frente a las testigo al menos en alguna de las tres variedades, excepto en el caso del peso seco radicular de plantas inoculadas con BC-2, RS-1 y TR. Para las combinaciones variedad-aislamiento en las que se registraron mermas significativas, los intervalos de reducción respecto a las plantas testigo fueron los siguientes: 24%-66% del peso húmedo de la raíz, 27%-67% del peso seco de la raíz, 17%-71% del peso húmedo de la parte aérea, y 15%-65% del peso seco de la parte aérea. De las especies inoculadas la que produjo un mayor efecto sobre el crecimiento vegetativo fue *S. sclerotiorum*, registrándose la mayor reducción en todos los índices en plantas de Pinta inoculadas con SC-1. Por contra, *R. solani* fue la especie que mostró menor patogenicidad en la parte aérea de las tres variedades y en la radicular de Riñón-menudo y Canela, mientras que en Pinta los mayores pesos radiculares se alcanzaron en plantas inoculadas con BC-1.

PAN-18

**IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES PMT
(Protein O-mannosyltransferase) EN EL HONGO FITOPATÓGENO
*Penicillium digitatum***

Harries, E., Gandía, M., Marcos J.F.

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Avda. Agustín Escardino 7. Paterna 46980 Valencia

La O-glicosilación de proteínas de pared celular es una modificación postraduccional esencial en células eucariotas y procariotas. Las Protein MannosylTransferasas (PMT) catalizan el paso inicial de la O-glicosilación que consiste en la adición de manosas a los residuos de serina y treonina de las proteínas en el retículo endoplasmático. En hongos, la familia PMT se encuentra dividida en tres subfamilias PMT1, PMT2 y PMT4 y está implicada en el mantenimiento de la integridad de la pared celular y el desarrollo morfológico. Además, se ha comprobado que participa en la patogénesis de hongos filamentosos incluyendo hongos fitopatógenos.

Con el objeto de conocer la importancia de la manosilación de proteínas en los procesos de morfogénesis y virulencia del hongo patógeno de frutos cítricos *Penicillium digitatum*, se han identificado y caracterizado los genes PMT a partir de una genoteca de DNA genómico del hongo. Se amplificaron por PCR tres fragmentos utilizando oligonucleótidos degenerados diseñados sobre regiones altamente conservadas de genes PMT en genomas de otros hongos euascomicetos. El análisis filogenético basado en la homología de secuencias reveló que cada una de las tres secuencias parciales aisladas representaba un miembro para cada subfamilia PMT. Posteriormente, se obtuvieron las secuencias completas de los tres genes identificados mediante el paseo cromosómico con oligonucleótidos específicos dentro de la biblioteca genómica creada de *P. digitatum*. Los genes (*PdigPmt1*, *PdigPmt2* y *PdigPmt4*) resultaron ser homólogos a los genes correspondientes de *Penicillium chrysogenum* (Pc20g07670, Pc12g05130 y Pc21g05160), compartiendo el 92%, 90% y 91% de identidad nucleotídica.

Se estudió la expresión de estos tres genes por RT-PCR a tiempo real, observando que dicha expresión no varía significativamente en el hongo crecido «in vitro» durante el período de tiempo analizado. Por otra parte, se observó que los tres genes PMT presentan valores de expresión muy bajos durante las etapas tempranas del progreso de la infección en frutos cítricos.

PAN-19

**CARACTERIZACIÓN DE GENES IMPLICADOS EN LA BIOSÍNTESIS
DE QUITINA EN EL HONGO PATÓGENO DE FRUTOS CÍTRICOS**
Penicillium digitatum

Gandía, M., Harries, E., Marcos J.F.

Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Avda. Agustín Escardino 7. Paterna 46980 Valencia

La pared celular de los hongos es una estructura única y excelente diana para el desarrollo de nuevos compuestos antifúngicos. En nuestro grupo habíamos identificado el péptido sintético PAF26, que es activo frente al hongo patógeno postcosecha de frutos cítricos *Penicillium digitatum*. Estudios previos han determinado que la primera estructura fúngica con la que interactúa PAF26 es la pared celular, y sugieren una implicación de la biosíntesis de quitina en la susceptibilidad/respuesta del hongo a la acción del péptido.

La quitina es un componente fundamental de la pared celular de los hongos y su síntesis está regulada por una familia compleja de genes (quitin-sintasas CHS) que se clasifican en siete clases distintas de las cuales las clases I, II y IV se presentan en hongos y levaduras y el resto de clases (III, V, VI y VII) solo se encuentran en hongos filamentosos. Utilizando parejas de cebadores degenerados diseñados a partir de regiones conservadas de CHS, hemos identificado cinco fragmentos diferentes sobre DNA genómico de *P. digitatum*, cuya secuenciación reveló homología con genes CHS. El análisis filogenético permitió clasificar a tres de estos fragmentos en tres clases distintas de CHS Clase I (*PdigChsI*), Clase III (*PdigChsIII*) y Clase V (*PdigChsV*), y los dos restantes no se pudieron adscribir a ninguna clase. Además, se han obtenido clones genómicos de longitud completa de los tres primeros.

Cuantificamos la expresión de los cinco genes mediante RT-PCR a tiempo real en ensayos de crecimiento de *P. digitatum* expuesto a distintas concentraciones de péptido durante diferentes tiempos. En conjunto todos los genes mostraron una leve variación de su expresión en función de la concentración de PAF26. Por otra parte, también determinamos la expresión de estos genes en una serie de mutantes del hongo obtenidos por irradiación UV y que muestran resistencia alterada a PAF26 y/o CFW, un fluoróforo antimicrobiano que une quitina. Finalmente, hemos cuantificado la expresión génica en ensayos de infección sobre frutos cítricos empleando tanto el aislado silvestre de *P. digitatum* como mutantes con virulencia disminuida. La expresión de los distintos genes en los ensayos de infección pudo ser detectada, aunque se confirmó que era baja, sobre todo en el caso de los genes que no se clasificaron en ninguna clase de quitin-sintasas.

PAN-20

**ESTUDIO DEL POSIBLE PAPEL DE LOS ÁCIDOS FENÓLICOS
EN LA RESISTENCIA PASIVA O PREEXISTENTE DE LA CAÑA
DE AZÚCAR AL CARBÓN**

Monge, P.¹, Fontaniella, B.¹, Legaz, M.E.¹ y Vicente, C.¹

Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal), Facultad de Biología, Universidad Complutense, 28040 Madrid

El carbón es una enfermedad causada por hongos Ustilaginales que afecta a numerosas especies gramíneas cultivadas como el maíz, el trigo o la caña de azúcar. En la caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.), la enfermedad, causada por *Ustilago scitaminea* Sydow, disminuye de forma importante tanto la calidad del jugo como el crecimiento y desarrollo de la planta, lo que repercute en la productividad del cultivo.

La principal herramienta para el control de esta enfermedad en las áreas de cultivo se ha basado en la caracterización y selección de cultivares resistentes. En estos cultivares resistentes se ha observado que la capacidad de penetración y de desarrollo del micelio dentro de los tejidos del huésped es menor que en los definidos como susceptibles. Los factores que determinan o confieren dicha resistencia al carbón en la caña de azúcar han sido asociados tanto a caracteres morfológicos como fisiológicos. Se ha observado que las plantas de caña de azúcar presentan respuestas de resistencia inducida relacionadas con la síntesis y acumulación de lignina, así como alteraciones tanto en los niveles como en la distribución de las diferentes fracciones de fenoles solubles.

En el presente trabajo y con el objetivo de determinar la implicación de los diferentes ácidos fenólicos en la resistencia pasiva o preexistente de la caña de azúcar al carbón, se han caracterizado cualitativa y cuantitativamente los ácidos fenólicos solubles, tanto en forma libre como conjugados, que existen en dos cultivares de caña, uno resistente (Mayari 55-14) y otro susceptible (Barbados 42-231). Posteriormente se ha determinado en condiciones *in vitro* el potencial inhibitorio de los ácidos fenólicos que resultaron ser más abundantes en los cultivares sobre el crecimiento del hongo.

Los resultados de este trabajo indican una posible relación entre el efecto inhibitorio asociado a la concentración de los diferentes ácidos fenólicos y el grado de resistencia.

PAN-21

CARACTERIZACIÓN DEL GEN *PdMFS1* DE *Penicillium digitatum* IMPLICADO EN RESISTENCIA A FUNGICIDAS Y PATOGÉNESIS

De Ramón, M.¹, López, M.², González-Candelas, L.², Sánchez-Torres, P.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Ctra Moncada-Náquera, Km. 4,5, Moncada, 46113-Valencia

² Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC), Ap. Correos 73, Burjassot, 46100-Valencia. E-mail: palomas@ivia.es

Penicillium digitatum es el agente causante de la podredumbre verde de los frutos cítricos, constituyendo el principal agente patógeno de los mismos durante la post-cosecha. El uso de forma continuada de determinados fungicidas ha derivado en el desarrollo de resistencias a los mismos, lo que conlleva a su ineficacia como sistema de control. La idea más extendida para explicar la resistencia a los fungicidas es la presencia de transportadores ABC y MFS, que proporcionan un amplio rango de protección frente a productos tóxicos, incluyendo compuestos de defensa de la planta y por ello pueden actuar también como factores de virulencia.

A partir de un fragmento de cDNA de *P. digitatum* obtenido de una genoteca substractiva que presentaba homología con transportadores tipo MFS, se ha clonado el gen completo desde una librería genómica. El gen *PdMFS1* tiene 5816 pb, presenta dos intrones y codifica una proteína de 728 aminoácidos.

Los estudios de expresión confirman el incremento de la misma en presencia de varios tipos de fungicidas, entre los que cabe destacar los más empleados en post-cosecha, imazalil y tiabendazol. Aparte de su participación en la resistencia de fungicidas, este transportador tiene una clara implicación durante la infección de frutos de naranja donde su expresión se ve incrementada.

Por otro lado dicho gen se ha empleado para transformar aislados de *P. digitatum* con diferentes fenotipos respecto a su resistencia a fungicidas y su grado de virulencia utilizando un sistema de transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Dichos transformantes han mostrado diferencias en su fenotipo respecto a su correspondiente cepa silvestre.

Este transportador de tipo MFS es el primero descrito en *P. digitatum* y constituye una diana de relevancia para el desarrollo de nuevas estrategias de control.

PAN-22

EFFECTOS «IN VITRO» DEL ÁCIDO CAFEICO SOBRE EL CRECIMIENTO DEL HONGO *Sporisorium scitamineum*

Santiago, R.¹, de Armas, R.², Blanch, M.³, Vicente, C.¹, Legaz, M.E.¹

¹ Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Complutense, 28040 Madrid, España. E-mail: rocsanti@bio.ucm.es

² Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: rdearmas45@yahoo.es

³ Departamento de Ciencia y Tecnología de Plantas, Instituto del Frío, CSIC, 28040 Madrid, España. E-mail: mblanchr@hotmail.com

El ácido cafeico (CA) a veces se comporta como una potente fitotoxina, afectando al crecimiento y fisiología de plantas y hongos. El objetivo del presente estudio es investigar si CA, en un rango de concentraciones similar al encontrado en hojas de caña de azúcar, tiene algún efecto en cualquiera de las diferentes fases del ciclo de crecimiento de *Sporisorium scitamineum*. La concentración foliar de CA en dos cultivares diferentes de caña de azúcar, Mayari (My) 55-14, resistente, y Barbados (B) 42231, susceptible al carbón, fue cuantificada cromatográficamente por HPLC. Un elicitor del carbón promueve un incremento en la concentración de CA en el cultivar resistente mientras que no ejerce ningún efecto sobre el susceptible. El efecto del CA sobre el ciclo de crecimiento de *S. scitamineum* mostró ser dependiente tanto de la concentración como del tiempo de acción. A una concentración de $5.0 \mu\text{g mL}^{-1}$, CA produce inhibición de la germinación de las teliosporas, producción de esporidios haploides y aparición del micelio dicariótico. A $30 \mu\text{g mL}^{-1}$, CA producía efectos similares a los descritos. La inhibición fue más evidente a las 24 h o 28 h de incubación de las teliosporas en la disolución de CA, antes que a las 48 h. CA a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ redujo tanto la germinación de las teliosporas como la producción de esporidios haploides, pero no tuvo un efecto significativo sobre la aparición del micelio dicariótico después de 24 h de incubación.

PAN-23

***Arabidopsis thaliana* Y SUS ENDOFITOS NATURALES: UN SISTEMA MODELO PARA EL ESTUDIO DE LOS FACTORES ECOLÓGICOS Y MOLECULARES IMPLICADOS EN LA EVOLUCIÓN DE LA VIRULENCIA**García, E.¹, Alonso, A.², Platas, G.³, Sacristán, S.¹¹ Departamento de Biotecnología, Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas. Campus Montegancedo, Universidad Politécnica de Madrid, Autopista M40 (Km. 38) 28223-Pozuelo de Alarcón, Madrid. E-mail: soledad.sacristan@upm.es² Departamento de Biotecnología, E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid³ Fundación Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía MEDINA. Parque Tecnológico de las Ciencias de la Salud de Granada. Avda del Conocimiento 3, 18100 Armilla, Granada

Se considera endófitos a aquéllos hongos que crecen en el interior de las plantas sin causar síntomas aparentes de enfermedad. Algunos endófitos presentan una considerable plasticidad fenotípica, estableciendo distintos tipos de interacciones, dependiendo de factores como el tipo de huésped. La gran mayoría de las plantas estudiadas en ecosistemas naturales están colonizadas por numerosos endófitos, desconociéndose, en muchos casos, el tipo de interacción (mutualista, saprofítica o parasítica) que están estableciendo. Explorar diferentes sistemas planta-endófito nos puede ayudar a entender mejor qué es lo que determina que el hongo se comporte como un mutualista o un patógeno, posibilitando la búsqueda de nuevas estrategias contra la interacción negativa que da lugar a la enfermedad. La utilización de un sistema experimental que incluya al huésped *A. thaliana* tiene grandes ventajas, ya que *A. thaliana* es la planta modelo mejor estudiada, su genoma está secuenciado y hay una gran cantidad de información disponible sobre su genética y genómica funcional.

Durante el año 2008 realizamos un estudio de la variación temporal de la incidencia y diversidad de infecciones por endofitos de cinco poblaciones de *A. thaliana* del centro de España. La incidencia de endofitos dependió de la época del año en que se realizó el muestreo, de la población y del órgano analizado. Tanto la distribución como las curvas de acumulación de especies indican que hemos aislado casi todas las especies comunes y que en muestreos más intensivos aparecerían más especies únicas.

De los aislados obtenidos, nos hemos centrado en el estudio de la especie *Ulocladium tuberculatum*, poniendo a punto un método de inoculación y ensayándolo en distintas accesiones de *A. thaliana*.

PAN-24

EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE DISTINTOS AISLADOS DE *Phytophthora capsici* EN DIFERENTES CULTIVARES DE PIMIENTO

Gisbert, C.¹, Sánchez-Torres, P.², Nuez, F.¹

¹Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad de Valencia. Universidad Politécnica de Valencia, CPI-E8. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

²Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Ctra Moncada-Náquera, Km 4,5, Moncada, 46113-Valencia E-mail: palomas@ivia.es

La tristeza o seca producida por *Phytophthora capsici* es una de las causas más importantes de pérdidas en cultivos de pimiento en distintas partes del mundo. El injerto sobre patrones resistentes a *P. capsici*, se está desarrollando como una alternativa o estrategia complementaria a la desinfección del suelo.

En este trabajo se ha evaluado la distinta capacidad infectiva de seis aislados de *P. capsici* de distintos orígenes (Pc122 y Pc123 de Almería, Pc129 y Pc130 del País Vasco y Pc448 y Pc450 de Francia) en diferentes variedades de plantas de pimiento: SCM 334 (con niveles altos de resistencia a *P. capsici*), el cultivar Charleston Hot (sensible) e híbridos desarrollados por el grupo, Charlot y Foc, que habían mostrado alto grado de resistencia a *P. capsici*. Para ello se llevó a cabo la inoculación de las distintas plantas con zoosporas de cada uno de estos aislados de forma aislada o de forma conjunta.

Los resultados obtenidos muestran variabilidad en cuanto a la virulencia de los aislados. Las plantas más afectadas fueron las Charleston Hot. Así la evaluación a los 15 dpi mostró que las cepas Pc450 y Pc122 resultaron las más virulentas seguidas por Pc129 y Pc130. Pc123 mostró escasa virulencia que sólo se incrementó a los 30 dpi con valores entre 30-60% y Pc448 resultó el aislado con menor capacidad infectiva con sólo 20%.

Las plantas de los híbridos Foc y Charlot inoculadas con cada uno de estos aislados no mostraron ningún síntoma a los 15 dpi. A los 30 dpi, únicamente un 20% de plantas de Charlot inoculadas con Pc450 y Pc122 presentaron síntomas de marchitez. Estos datos confirman la mayor virulencia de estos aislados y muestran el alto grado de tolerancia a *P. capsici* de los híbridos Charlot y Foc. Las infecciones combinadas de Pc130 junto los aislados Pc122, Pc123, Pc129, Pc448 no evidenciaron efectos sinérgicos ni antagonistas.

La altura de las plantas de SCM 334 (sin síntomas de marchitez) a los 30 dpi no se vio reducida a consecuencia de la infección respecto a la de las plantas control salvo en aquellas plantas inoculadas con las combinaciones Pc130-123 y Pc130-448 que mostraron una reducción del 10-20%.

PAN-25

**COMPARACION DE LA VIRULENCIA DE LAS TRES ESPECIES
DE *Monilinia* spp. EN EL VALLE DEL EBRO**

Villarino, M., Melgarejo, P., De Cal, A.

Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña km 7, 28040 Madrid

La distribución mundial de las tres especies de *Monilinia* spp. era hasta el momento dicotómica, generalmente sólo se encontraban dos especies por continente o por área cultivo. Las tres especies: *M. laxa*, *M. fructigena* y *M. fructicola* sólo se habían citado simultáneamente en Brasil y China, pero nunca en las mismas áreas de cultivo. Esta situación de coexistencia de las tres especies en una sola zona, se está dando en estos momentos en el Valle del Ebro.

Por ello se ha llevado a cabo un estudio de distintas componentes de fitness parasítica (germinación, longitud de tubos germinativos, crecimiento y esporulación de las colonias en medio de cultivo, crecimiento de la lesión, periodo de incubación y de latencia) en 6 aislados de cada especie. La germinación y la longitud de los tubos germinativos de las conidias de los aislados de las tres especies de *Monilinia* se evaluaron mediante bioensayo; la velocidad de crecimiento y la esporulación en placas de Petri conteniendo agar patata dextrosa (APD). Se inoculaban 5 placas por cada aislado. Para comparar la capacidad de infección de los aislados de cada una de las tres especies se realizaron dos ensayos en 2008 y 2009 sobre melocotones esterilizados superficialmente (nectarinas de la variedad 'Big Top') que eran inoculados artificialmente con una suspensión de conidias (10^4 conidia ml^{-1}) en agua de cada aislado. Se realizaron tres incisiones sobre la superficie de cada fruto con una aguja estéril donde se aplicaron respectivamente tres gotas, de 25 μ l cada una, de la suspensión de conidias de cada aislado del patógeno en agua. Una vez secas estas gotas los frutos se incubaron durante 7 días a 25 °C y 99-100% HR. Los datos de los componentes de la fitness parasítica de las tres especies de *Monilinia* spp. se analizaron con un GLM. La correlación fenotípica entre los componentes de fitness parasítica y el porcentaje de podredumbre se estimaron con el coeficiente de Pearson.

Los aislados de *M. fructicola* recogidos en el Valle del Ebro presentan mayor virulencia respecto a las otras dos especies en cuanto a los factores de germinación y longitud de tubos germinativos, velocidad de crecimiento y capacidad de esporulación, que favorecerían su potencial de infección y colonización del huésped. Sin embargo, los aislados de *M. fructigena* presentan siempre menor virulencia respecto a las otras dos especies en cuanto a los cuatro componentes de la fitness parasítica correlacionados con la podredumbre en melocotones. Estos resultados apuntan a un futuro escenario donde sólo *M. fructicola* y *M. laxa* podrán coexistir en el patosistema de la podredumbre parda del melocotonero.

PAN-26

**VARIACIÓN DE LA COMUNIDAD FÚNGICA ENDOFÍTICA
CON LA ESTRUCTURA DE MASAS DE PINO SILVESTRE
EN EL NORTE DE ESPAÑA**

Sanz-Ros, A.V.^{1,3}, Müller, M.², Díez, J.J.¹

¹ Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. Universidad de Valladolid. Avenida Madrid, 44. Campus La Yutera. Edificio E, 34003 Palencia, Castilla y León, España. E-mail: tra-sanrosan@jcyf.es

² Instituto Finés de Investigación Forestal (METLA), Vantaa, Finlandia

³ Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Polígono Industrial de Villamuriel, s/n. 34190. Villamuriel de Cerrato (Palencia, Castilla y León, España)

Los hongos juegan un papel muy importante como organismos asociados, de muy diversas maneras, con las plantas distribuidas por todo el mundo. Casi la mitad de los hongos conocidos están asociados a plantas, y de ellos, una buena parte actúan como endófitos. Estos hongos parecen coevolucionar con sus hospedantes vegetales, aunque la relación hongo-planta es altamente específica para cada sistema hongo-hospedador, habiéndose descrito muy diversas interacciones entre ambos, que pueden resultar desde beneficiosas para los tejidos vegetales sanos hasta en la enfermedad de tejidos estresados. La estrecha relación entre ambos organismos y el desconocimiento del papel de los endófitos en la mayoría de los casos hace necesario el estudio de la influencia de los factores ambientales de cada ecosistema en la comunidad fúngica endofítica. La hipótesis que se pretende testar en este estudio es si las condiciones derivadas de la estructura y el crecimiento de masas de pino silvestre (*Pinus sylvestris* L.) determinan la composición de la comunidad fúngica endofítica asociada a ellas. Para ello fueron tomadas muestras en 15 parcelas del IFN en la comarca de Páramos y Valles de Palencia (Castilla y León, España), en cada una de las cuales se tomaron ramillos de dos árboles al azar, obteniéndose posteriormente los aislamientos (cerca de 2000), que fueron posteriormente agrupados en 100 «morfotipos». Éstos fueron identificados mediante técnicas moleculares, usando las regiones ITS como marcador molecular para generar amplicones, que posteriormente fueron secuenciados y comparados en el GenBank. Por otro lado fueron medidas en campo diversas variables dasométricas, como la tasa de crecimiento, edad, densidad, área basimétrica, DBH y altura, así como otras que fueron obtenidas del IFN. El análisis estadístico multivariante mostró claramente asociaciones entre grupos de hongos y ciertos parámetros de la masa que podrían resultar interesantes en el manejo de dichas masas, como puede ser la tasa de crecimiento.

PAN-27

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE RAZAS DE *Bremia lactucae* EN CAMPOS DE CULTIVO COMERCIALES EN ESPAÑA

García, A.¹, Ursua, B.², Murillo, J.¹

¹ ETS Ingenieros Agrónomos, Dpto. Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra, Departamento de Producción Agraria, Campus de Arrosadía s/n C.P. 31006. Email: jesus.murillo@unavarra.es

² Ramiro Arnedo S.A. C/ General Gallarza 38, Aptdo correos 21, 26500 Calahorra

La lechuga es uno de los cultivos de mayor importancia económica en el mundo, siendo España el tercer país en producción con 1×10^6 t. El mildiú de la lechuga, causado por *Bremia lactucae*, es la enfermedad de mayor importancia en el cultivo y el principal factor limitante de su rendimiento. *B. lactucae* es un oomicete del O. Peronosporales y patógeno obligado de plantas de la familia *Asteraceae*, de las cuales las especies de importancia económica son la lechuga y la alcachofa. Los métodos de control actuales se basan en la utilización de fungicidas, aunque su efectividad es limitada debido a la aparición de cepas resistentes y a la escasez de materias activas disponibles; por ello, y debido también a la preocupación de los consumidores por los residuos de plaguicidas, se está impulsando la utilización de la resistencia vegetal como método de control en campo. Se han descrito 27 razas de *B. lactucae* en Europa, catalogadas oficialmente por el INRA, Francia, en función de su virulencia frente a 20 variedades de lechuga, aunque se sabe que la variabilidad en campo es probablemente mayor. El objetivo de este trabajo es el de identificar las razas de *B. lactucae* presentes en campos de cultivo de lechuga comerciales en España, así como la evaluación de la resistencia de una colección de germoplasma de lechuga con el fin de obtener variedades de lechuga con resistencia amplia y duradera a mildiú. Sólo dos tercios de los aislados recogidos en diversas prospecciones en las comunidades de Castilla-La Mancha y Murcia pudieron ser amplificadas en lechuga cv. Cobham Green; la interacción de 31 de estos aislados con el set de variedades diferenciales nos ha permitido clasificarlos en 17 razas distintas, de las cuales sólo una está reconocida internacionalmente, lo que sugiere una gran variabilidad patogénica de *B. lactucae* en España. La inoculación de 50 variedades de lechuga con estos aislados indica que hay mayor variabilidad de la observada, ya que el patrón de patogenicidad es a menudo diferente para aislados de la misma raza. Igualmente, hemos identificado diversas variedades de lechuga cuyos patrones de resistencia frente al patógeno sugieren que podrían ser utilizadas como fuentes de genes de resistencia para el desarrollo de nuevas variedades comerciales.

PAN-28

ESTUDIO DE RESISTENCIA A *Rosellinia necatrix* DE PLANTAS DE FRESA TRANSFORMADAS CON GENES DE *Trichoderma*

Ruano-Rosa, D.¹, Barceló Muñoz, M.², Mercado, J.A.³, Caballero, J.L.⁴, Pliego-Alfaro, F.³, López-Herrera, C. J.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. C/ Alameda del Obispo s/n 14004. Córdoba, España. E-mail: lherrera@cica.es

² IFAPA- Churriana. Málaga. Cortijo de la Cruz s/n. 29140 Churriana. Málaga

³ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora» Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Dept. Biología Vegetal, Campus Teatinos, 29071 Málaga

⁴ Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, Córdoba

Trichoderma es un hongo usado como agente de biocontrol en condiciones de campo. Su capacidad de biocontrol parece estar basada en la expresión de enzimas hidrolíticas, quitinasas y glucanasas, que afectan a la degradación de las paredes de hongos patógenos. En este trabajo se utilizaron plantas de fresa transformadas con genes de *Trichoderma*. En un primer experimento se determinó la dosis de inóculo de *Rosellinia necatrix* y una escala de síntomas adecuada para observar el progreso de la podredumbre blanca causada por este hongo en plantas del cv. Camarosa. Para ello se inocularon plantas de 4 meses de edad, crecidas en maceta, y aclimatadas posteriormente a condiciones de ambiente controlado. Las dosis estudiadas fueron 0,25-0,50-1,00-1,50 gr. de trigo colonizado por el patógeno, aplicadas al suelo de cada maceta. La dosis seleccionada fue 0,5 gr., ya que permitía observar el progreso de la enfermedad en las plantas, muriendo todas ellas en un intervalo de 28-33 días, desde la inoculación. En base a la aparición de síntomas se elaboró una escala de 1 a 5. 1: Planta sana; 2: Aparición de manchas rojizas y enrojecimiento de pecíolos; 3: Comienzo de amarilleo de hojas, pecíolos rojos y decaimiento de la planta; 4: Marchitez total, comienzo de aparición de necrosis foliar; 5: Planta muerta. Se realizó un segundo experimento con 0,25-0,50 gr. para confirmar la dosis seleccionada y la escala de síntomas.

Con esta dosis de inóculo y la escala de síntomas elaborada, se realizaron un tercer y cuarto experimento, en los que se evaluaron 9 líneas independientes transformadas con el gen β ,1,3-glucanasa y 6 líneas independientes transformadas con el gen de quitinasa chi-42 (ROSA), respectivamente. En el tercer experimento, el mayor grado de tolerancia lo mostró la línea β 10 mientras que β 6 y β 15, presentaron una tolerancia media. En el cuarto experimento, las líneas ROSA 15 y ROSA 25 pueden considerarse ligeramente más tolerantes que el resto.

En la actualidad se están realizando experimentos adicionales que confirmen los resultados obtenidos.

PAN-29

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE TOMATE A *Fusarium oxysporum*
f. sp *lycopersici* MEDIANTE ENSAYOS BIOLÓGICOS
Y MOLECULARES**

Moyano, C., Herradón, E.

Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero, Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorio, Laboratorio de Sanidad, INIA-SGIT. Ctra. La Coruña Km. 7.5, 28040 Madrid. E-mail: cardaba@inia.es

La Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorio (DTEVV) realiza entre otros trabajos los ensayos de identificación de variedades, preceptivos para el registro de variedades comerciales o para la protección de obtenciones vegetales entre los que se encuentran los de determinación de la resistencia a enfermedades.

La resistencia de tomate a *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* (Fol) se evalúa en el Laboratorio de Sanidad siguiendo el ensayo biológico que marca el protocolo de la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales, actualización del 2007 en la que participó nuestro laboratorio. Según este protocolo las plantas que se encuentran en el estado de primera hoja se sumergen en una solución de 10⁶ esporas/ml durante 10 minutos. A los 21 días se evalúan los síntomas de acuerdo a la siguiente escala; 0: sin síntomas, 1: aspecto sano de la planta sin reducción de crecimiento con necrosis normalmente por debajo del cotiledón, 2: reducción de crecimiento y vasos necrosados por encima del cotiledón, 3: muerte de la planta. 0, 1 resistente, 2 y 3 sensible.

Para la determinación de la resistencia a Fol mediante marcadores moleculares se ha optimizado el protocolo desarrollado dentro del proyecto «*Development and evaluation of molecular markers linked to disease resistance genes for tomato DUS testing (option 1^a)*», financiado por la CPVO, en el que participaron la DTEVL y la Unidad de Genómica y Proteómica del INIA, junto con diferentes laboratorios de Francia y Holanda. El protocolo utilizado para ver la resistencia del gen *I*, que confiere resistencia a la raza 0, se basa en un marcador SCAR dominante, utilizando como componentes de la mix, unas concentraciones finales de 1.5 µl de MgCl₂ (50mM), 0.2 µl de dNTPs (10mM), buffer 1X, primers a 0.4 µl cada uno, así como 0.2 µl de los primers utilizados como control de la PCR (Lat). La polimerasa utilizada ha sido la BioTaq (Ecogen) en concentración final de 0.05 U/ µl. Los mejores resultados se han obtenido con los siguientes parámetros de la PCR: 35 ciclos de 30s de desnaturalización a 94 °C, 30s de annealing a 50 °C y 1min de elongación a 72 °C. Todo ello con una desnaturalización previa de 5 min a 94 °C y una elongación posterior de 5 min a 72 °C.

Los resultados obtenidos hasta ahora, tanto en los ensayos biológicos como moleculares, son equiparables y aportan una mayor fiabilidad a la hora de declarar una variedad como sensible o resistente. Se está trabajando igualmente en poner a punto la técnica de detección del gen *I2* que confiere resistencia a la raza 1.

PAN-30

UTILIZACIÓN DE *Trichoderma* spp. EN EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE CUELLO Y RAÍZ DE ESPÁRRAGO

González-Domínguez, E.¹, Molinero-Ruiz, M.L.¹, Sánchez-Jimenez, V.¹, Vela-Delgado, M.D.², Basallote-Ureba, M.J.¹

¹ IFAPA Las Torres-Tomejil, Apdo. Oficial, 41200 Alcalá del Río (Sevilla)

² IFAPA Chipiona, Camino de Esparragosa s/n, 11550 Chipiona (Cádiz)

La podredumbre de raíz y cuello (PRC) producida por diversas especies del género *Fusarium* es una de las principales enfermedades del espárrago (*Asparagus officinalis* L.), provocando importantes pérdidas de producción. Para evaluar la capacidad antagonista de cuatro aislados de *Trichoderma* spp. (TGr1.41, T108, T25/99 y T11) frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *asparagi* (*Foa*) y *Fusarium solani* (*Fs*) en 2009 se llevaron a cabo cuatro experimentos en umbráculo en dos localidades: Alcalá del Río (Sevilla) y Chipiona (Cádiz). Se utilizaron contenedores de 100 l de capacidad infestados con *Foa* o *Fs* (10^3 - 10^5 UFC/g suelo) en los cuales se sembraron cuatro plantas del cultivar de espárrago Grande, susceptible a la enfermedad. Previamente a su plantación, las plantas fueron tratadas mediante inmersión de sus raíces en una dilución de *Trichoderma* spp. (10^7 conidias/ml) y, tras su plantación, mediante aportes mensuales de los mismos aislados incrementados en granos de trigo. Al finalizar el ensayo se determinó el peso fresco de las raíces y se cuantificó la densidad de *Trichoderma* spp. en la rizosfera. En todos los experimentos se obtuvieron niveles bajos de enfermedad, debido posiblemente a la baja densidad de inóculo en el sustrato antes de la plantación y a condiciones ambientales poco favorables para el desarrollo de la PRC. No se encontraron diferencias significativas entre las plantas tratadas con cualquiera de los aislados de *Trichoderma* spp. y las plantas testigo no tratadas, tanto en el conjunto de plantas inoculadas con *Foa* o *Fs* como en el de las no inoculadas. Sí se observó una interacción entre el aislado de *T. atroviride* (T11) con *Foa* y *Fs*, y el de *T. asperellum* (T108) con *Fs*, de forma que el peso de las plantas tratadas con dichos aislados fue significativamente mayor cuando se encontraron en contacto con los patógenos. El estudio de la colonización de la rizosfera por parte de *Trichoderma* spp. también mostró en algunos casos una interacción entre el agente de biocontrol y el patógeno: los aislados T11 y T108 colonizaron en mayor extensión la rizosfera de las plantas de espárrago que estuvieron en contacto con *Foa* y, con *Foa* y *Fs*, respectivamente, que las de las plantas tratadas no inoculadas.

PAN-31

EL FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN *fff1* ESTÁ RELACIONADO CON VIRULENCIA EN AISLADOS DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*Gómez-Lama, C.¹, Díaz-Mínguez, J.M.², y Pérez-Artés, E.¹¹ IAS-CSIC, Córdoba. ² Dpto. Genética, Universidad de Salamanca

Las poblaciones de *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* (Fod) en España presentan un alto grado de diversidad patogénico-molecular, evidente no sólo entre aislados de diferente raza sino también entre aislados de una misma raza. En investigaciones anteriores, la amplificación (RAPDs y PCR-específicas) del ADN de una amplia colección de aislados de Fod puso de manifiesto la existencia de distintos grupos moleculares dentro de las razas R1 y R2. La realización de test de patogenicidad con aislados representativos de dichos grupos permitió establecer una asociación entre grupo molecular y grado de virulencia. Así, los denominados Grupo I (GI) de las razas R1 y R2 contienen a aislados altamente virulentos, en tanto que los Grupo II (GII) contienen a los aislados de R1 y R2 de baja virulencia. El carácter patogénico de un aislado va ligado a la posesión y expresión de una batería de genes relacionados con virulencia. Estudios llevados a cabo en *F.o. phaseoli* (Fop) han asociado la presencia y el número de copias funcionales de un factor de transcripción, denominado *fff1*, con el grado de virulencia del aislado. Para determinar la presencia del factor de transcripción en Fod y su posible relación con virulencia, hemos analizado una colección de aislados de diferentes razas procedentes del sur de España y de Italia. La presencia de *fff1* se determinó utilizando los iniciadores B5/M17.5A, que amplifican un fragmento de ADN de 796 pb correspondiente a parte de la región codificante de *fff1*. Los resultados mostraron la presencia de *fff1* en los aislados altamente virulentos (GI), en tanto que la gran mayoría (28 de 30) de los aislados de baja virulencia (GII) carecían de él. Además, en una selección de aislados se determinó el número de copias de *fff1* mediante digestión del ADN e hibridación con las sondas B5-M17.5A y B310-A28 (zonas codificante y promotora de *fff1*, respectivamente). En los aislados altamente virulentos (GI) de las razas R1 y R2 se detectaron 7 copias polimórficas, mientras que los aislados de baja virulencia (GII) de ambas razas presentaron de 0 a 1 copia. Una excepción fueron los dos aislados del GII que habían dado amplificación positiva para *fff1*, y que presentaron 2 y 3 copias, respectivamente. Para confirmar la relación entre número de copias de *fff1* y grado de virulencia, se llevó a cabo un nuevo test de patogenicidad con aquéllos aislados que no habían sido testados recientemente. El resultado fue que los aislados que poseían un alto número de copias del factor de transcripción mostraron mayor virulencia en comparación con aislados con bajo número de copias o con aislados carentes de *fff1*.

* Investigación financiada por el Proyecto AGL2006/03252.

PAN-32

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LAS POBLACIONES DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* BASADO EN SECUENCIAS IGS

Gómez-Lama, C.¹, Troisi, M.², Gullino, M.L.², y Pérez-Artés, E.¹

¹ IAS-CSIC, Córdoba

² Agroinnova, Universidad de Turín

Fusarium oxysporum f. sp. *dianthi* (Fod) es el agente causal de la marchitez vascular del clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), enfermedad que provoca cuantiosas pérdidas anuales en la industria de la flor cortada a nivel mundial. Se han descrito 10 razas fisiológicas del patógeno en base a la respuesta a la infección de cultivares de clavel diferenciadores. Aunque hace dos décadas se llegaron a detectar en España 4 de las 10 razas, en la actualidad las razas predominantes son la raza 1 (R1) y la raza 2 (R2).

El análisis molecular de una amplia colección de aislados de Fod caracterizados patogénicamente y procedentes del sur de España ha mostrado la existencia de un alto grado de diversidad genética en las poblaciones. La amplificación del ADN de los aislados, utilizando iniciadores aleatorios (RAPDs) así como diferentes parejas de iniciadores específicos (PCR-específicas), ha puesto de manifiesto la existencia de distintos grupos moleculares dentro de las razas R1 y R2. En nuevas pruebas de patogenicidad dichos grupos moleculares se asociaron a diferentes grupos de virulencia. Para profundizar en el estudio de la diversidad genética, se ha llevado a cabo el análisis de las regiones intergénicas ribosomales (IGS) en una colección de 46 aislados de Fod, que incluye representantes de los grupos moleculares identificados en las razas R1 y R2 españolas, así como algunos representantes de R1, R2, R4 y R8 de origen italiano y un aislado de R2 de Israel. Las secuencias IGS fueron amplificadas mediante PCR utilizando 10 iniciadores complementarios a secuencias ribosomales conservadas. Se obtuvieron 14 longitudes diferentes de secuencia, comprendidas en un rango de 2564 a 2599 pb, encontrándose una asociación entre las secuencias de mayor tamaño y los aislados de alta virulencia en todas las razas, a excepción de la R4. El análisis filogenético basado en las secuencias IGS permite establecer como grupo monofilético a los aislados con alta virulencia y mismo grupo molecular de las razas R1 y R2. Estos resultados son concordantes con los obtenidos en análisis filogenéticos basados en amplificaciones RAPDs.

* Investigación financiada por el Proyecto AGL2006/0325.

PAN-33

**EFEECTO DE FACTORES DE VIRULENCIA EXTRAIDOS DE
Sporisorium scitamienum SOBRE LA LIGNIFICACION DE ELEMENTOS
CONDUCTORES TRANSVERSALES EN HOJAS DE CAÑA DE AZÚCAR**

Alarcón, B., Santiago, R., Vicente Legaz, M.E.

Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal), Facultad de Biología, Universidad Complutense, Avda. José Antonio Novais 2, 28040 Madrid. 1E-mail: borjaestremera@hotmail.com

La caña de azúcar pertenece al grupo de las angiospermas monocotiledóneas denominado plantas C4 y sus hojas en corte transversal muestran una típica anatomía Kranz. Entre las dos epidermis se encuentran los paquetes vasculares formados por metaxilema o tubos traqueales, protoxilema, floema y fibras periféricas. Los haces vasculares, paralelos al nervio central de la hoja, se denominan longitudinales, y a su vez están interconectados por numerosos haces transversales que normalmente están formados por una fila simple de tubos traqueales en la parte superior y por debajo de estos, en contacto directo con ellos, una fila de elementos cribosos.

Una de las principales enfermedades de la caña de azúcar es la del carbón que afecta al crecimiento vegetativo y a la calidad del jugo; está provocada por el hongo *Sporisorium scitamineum* (Syd.) Piepenbr. & Oberw. 2002 (= *Ustilago scitaminea* Sydow & P. Sydow). En el presente estudio, se trata de comparar el grado de lignificación que ocurre en los elementos transversales, como consecuencia de la respuesta de defensa mecánica frente a la enfermedad del carbón. Para ello se han elegido hojas de *Saccharum officinarum* L. de dos cultivares diferentes, My 5514, resistente a la enfermedad del carbón y B 42231, sensible a la misma, procedentes de plantas control o tratadas con factores de virulencia de *S. scitamineum*.

El tratamiento de las hojas con factores de virulencia produce un incremento de lignificación en el esclerénquima de las hojas del cultivar resistente como respuesta mecánica de defensa de la planta ante el ataque de *S. scitamineum*, hecho que no sucede en el cultivar sensible a la enfermedad del carbón. Dicha lignificación afecta, tanto a los elementos vasculares longitudinales como a los transversales, si bien el número de estos últimos no es afectado por los factores de virulencia, siendo una mera característica varietal.

PAN-34

**PAPEL DEL CITOESQUELETO EN LA QUIMIOTAXIS DE TELIOSPORAS
DE *Sporisorium scitamineum* INDUCIDA GLICOPROTEÍNAS
DE CAÑA DE AZÚCAR**

Díaz, E.M., Sacristán, M., Sánchez-Elordi, E., Tirado, S., Quintana, J., Vicente, C., Legaz, M.E.

Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Complutense, Avda. José Antonio Novais 2, 28040 Madrid. E-mail: evasilvestre7@hotmail.com

Sporisorium scitamineum es un hongo causante del carbón de la caña de azúcar, una enfermedad muy extendida que afecta el crecimiento de la planta y la calidad de los jugos, por lo que produce graves pérdidas en el rendimiento industrial del cultivo.

Las teliosporas del patógeno sufren citoaglutinación en presencia de glicoproteínas de caña, que son expresadas como factor de resistencia tras una infección experimental. Esta citoaglutinación tiene dos sentidos, según las glicoproteínas procedan de cultivares sensibles o resistentes. Si proceden de cv. resistentes, inhiben la polaridad celular y la emisión del tubo germinativo. Si de sensibles, aceleran la germinación de las teliosporas.

Sea cual sea el origen de las glicoproteínas, el mecanismo de citoaglutinación precisa de motilidad de las teliosporas. La visualización de las mismas mediante microscopía electrónica de barrido revela ausencia total de órganos superficiales de desplazamiento, cilios, flagelos o fimbrias. La motilidad que permite la citoaglutinación se ha estudiado entonces mediante el uso de inhibidores de la actividad del citoesqueleto. La faloidina, que mantiene la actina polimerizada, inhibe el desplazamiento de las teliosporas en más de un 60% al cabo de 4h de tratamiento. Incluyendo blebistatina, un inhibidor de la contracción de la miosina II, en los medios de incubación, el desplazamiento se inhibe en un 50%. El uso de ambos inhibidores simultáneamente inhibe por completo la motilidad de las teliosporas.

El uso de latrunculina A, un agente despolimerizante de la F-actina, activa levemente la motilidad celular, lo cual parece indicar que dicha motilidad está sustentada por un mecanismo básico de polimerización-despolimerización de actina con el cual conecta un sistema de contracción-relajación de miosina II. Un tal mecanismo de contracción-relajación del citoesqueleto obligaría a redefinir la motilidad de las teliosporas del *S. scitamineum* como un quimiotropismo antes que quimiotaxis.

PAN-35

EFFECTO DE FACTORES DE VIRULENCIA EXTRAÍDOS DE *Sporisorium scitamienum* SOBRE LA ACUMULACIÓN DE LIGNINA Y LA ACTIVACIÓN DE CINNAMIL ALCOHOL DESHIDROGENASAS EN HOJAS DE CAÑA DE AZÚCAR

Sacristán, M.¹, Díaz, E.M.¹, Alarcón, B.¹, de Armas, R.², Vicente, C.¹, Legaz, M.E.¹

¹ Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal), Facultad de Biología, Universidad Complutense, Avda. José Antonio Novais 2, 28040 Madrid. España. E-mail: marasacristan@bio.ucm.es

² Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, La Habana 10900, Cuba. E-mail: roberto@rect.uh.cu

Sporisorium scitamineum es un hongo causante de una importante enfermedad en la caña de azúcar que afecta el crecimiento de la planta y la calidad de los jugos por lo que produce grandes pérdidas en los rendimientos agrícolas y azucareros del cultivo.

Teliosporas del patógeno se incubaron en condiciones estériles en medio patata dextrosa y del micelio formado se extrajeron factores de virulencia que *in vitro* se pusieron a interactuar con discos de hojas de los cultivares B 42231, susceptible al hongo y My 5514 de reconocida resistencia.

A diferentes tiempos de incubación (0, 12, 24, 48 y 72 horas) se determinaron los contenidos de lignina y las actividades de la sinapil alcohol deshidrogenasa y la coniferil alcohol deshidrogenasa para lo cual se utilizó un método por HPLC desarrollado en nuestro laboratorio.

Se encontró un incremento sostenido en la acumulación de lignina en el cultivar resistente, My 5514, a partir de las 12 horas que se mantuvo hasta las 48 horas de incubación. Los discos de hojas control que no interactuaron con los factores de virulencia extraídos del micelio mantuvieron niveles constantes de lignina al igual que en la variedad susceptible B 42231.

La determinación de lignina a través de la digestión por el método del bromuro de acetilo rindió mayores valores de absorbancia a 270 nm que a 280 nm lo que es orientativo de que la lignina producida es más rica en la fracción siringil que en la fracción guayacil.

Se analizan los resultados de las actividades de las enzimas estudiadas, responsables de producir los alcoholes monoméricos que participan directamente en la síntesis de lignina y se relacionan con los cambios en los contenidos de lignina producidos en ambos cultivares.

El trabajo muestra un modelo *in vitro* sencillo para evaluar la posible resistencia o susceptibilidad de un cultivar de caña de azúcar frente a *S. scitamineum*.

PAN-36

ALGUNOS SÍNTOMAS VISIBLES DE LA ESCALDADURA FOLIAR PUEDEN SER CORRELACIONADOS CON LA PRODUCCIÓN DE XANTANOS EXOCELULARES POR *Xanthomonas albilineans*

Blanch, M.¹, Santiago, R.¹, de Armas, R.², Solas, M.T.³, Vicente, C.¹, Legaz, M.E.¹

¹ Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad Complutense, Ave. José Antonio Novais 2, 28040 Madrid. E-mail: mblanchr@hotmail.com. ²Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: roberto@rect.uh.cu

³ Departamento de Biología Celular, Facultad de Biología, Universidad Complutense, Ave. José Antonio Novais 2, 28040 Madrid. E-mail: msolas@bio.ucm.es

La enfermedad de la escaldadura foliar de la caña de azúcar está producida por la bacteria *Xanthomonas albilineans*. Los principales síntomas visibles de tal enfermedad consisten en una franja clorótica en el limbo foliar, de 1-2 mm de anchura, en paralelo a la nervadura principal, desecación foliar y necrosis. El primer síntoma está relacionado por la producción de una toxina bacteriana, la albicidina, que interfiere con la diferenciación del cloroplasto y la replicación del plastoma. La desecación foliar está producida por la secreción de un polisacárido bacteriano, un xantano, que invade principalmente el xilema, aunque también puede encontrarse en el floema y mesófilo en estados avanzados de infección. Los depósitos de xantano terminan por obturar los vasos conductores e impiden la llegada del agua a las hojas. La desecación va seguida de necrosis foliar. Estos síntomas pueden desaparecer con el tiempo, aunque la planta siga infectada. Utilizando microscopía electrónica, tanto de transmisión como de barrido, se ha podido relacionar la presencia del xantano con el desarrollo de los síntomas visibles a él asociados. La naturaleza polisacáridica de este material ha sido revelada en MET mediante la reacción PATAg, específica de polisacáridos, gracias a la cual se han podido visualizar depósitos en el interior de los elementos floemáticos. Estos polisacáridos no se observan en hojas sanas o en hojas de aquellas plantas que, infectadas experimentalmente con el patógeno, no han desarrollado síntomas visibles de la enfermedad. El material fibroso que constituye los depósitos de xantano ha podido ser visualizado por MEB tanto en el interior de los elementos xilemáticos como floemáticos e invadiendo los espacios intercelulares del mesófilo. Esta red de material fibroso es muy poco densa en aquellas plantas que, aunque infectadas experimentalmente, no han desarrollado síntomas visibles de desecación o necrosis, mientras está completamente ausente de hojas de plantas sanas. Sin embargo, y a diferencia de lo que sucede con *X. campestris* pv. *campestris*, *X. albilineans* no produce xantano en cultivo, aunque es activamente sintetizado cuando la bacteria invade a su huésped. Este hecho ha sido explicado mediante la producción de glicoproteínas por parte de cultivares sensibles a la enfermedad tras la infección bacteriana. Estas glicoproteínas inhiben las proteasas bacterianas que actúan sobre la UDP glucosa deshidrogenada, la enzima que sintetiza ácido UGP glucurónico, usado para incorporar unidades glucuronato en las cadenas laterales del xantano durante la fase de polimerización.

PAN-37

**EMPLEO DE CEPAS DE *Penicillium digitatum* Y *P. expansum*
MARCADAS CON PROTEÍNA VERDE DE FLUORESCENCIA (GFP)
PARA ESTUDIAR SU PROCESO INFECCIOSO EN NARANJAS
Y MANZANAS**

Buron-Moles, G.¹, López-Pérez, M.³, González-Candelas, L.³, Torres, R.², Teixidó, N.², Vilanova, L.² y Viñas, I.¹

¹ Universitat de Lleida. Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Avda. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida. E-mail: gemma.buron@irta.cat

² IRTA, Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Avda. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida

³ Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC). Ap. De Correos 73, Burjassot. 46100-Valencia

Penicillium digitatum y *P. expansum* son los mohos responsables de las podredumbres verde y azul, en cítricos y en frutos de pepita, respectivamente, siendo éstas las enfermedades que más pérdidas económicas causan en postcosecha en estos frutos. El uso de cepas marcadas con proteína verde de fluorescencia (GFP) puede ser una herramienta muy útil para estudiar la interacción compatible e incompatible entre patógeno-hospedador «*in vivo*». En este trabajo se obtuvieron transformantes de *P. digitatum* y *P. expansum* que expresan dos variantes distintas de GFP de *Aequorea victoria* mediante transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. En la primera serie de transformantes se obtuvo un plásmido binario con el gen *egfp* bajo el control del promotor del gen *gpdA* de *Aspergillus nidulans* y en la segunda se utilizó otro plásmido binario con el gen *sgfp* bajo el control del promotor del gen *ToxA Pyrenophora tritici-repentis*. En ambos casos se utilizó la resistencia a higromicina como marcador de selección. Una vez obtenidas las cepas transformantes se comparó la capacidad de germinación/crecimiento con las cepas no transformadas o salvajes «*in vitro*». Para ello, se inocularon las cepas salvajes y las transformadas en placas de Patata Dextrosa Agar. Las placas se incubaron a temperatura ambiente y de frigoconservación; evaluando a diferentes tiempos el número de esporas germinadas. El ensayo «*in vivo*» de virulencia de *P. digitatum* y de *P. expansum* se realizó con naranjas y manzanas, respectivamente. A los frutos se les hizo una herida y se inocularon las cepas objeto de estudio. Los frutos se incubaron a 20 °C y 85% HR y transcurridos 5-10 días se midieron los diámetros de podredumbre. Los resultados indicaron que las cepas transformadas con GFP no perdieron su virulencia ni su capacidad de germinación/crecimiento en comparación con las salvajes. Por tanto, las cepas marcadas con GFP serán de gran utilidad para el seguimiento de la dinámica poblacional en frutos.

PAN-38

**DIFERENCIAS EN LA DIVERSIDAD DE ESPECIES FÚNGICAS
ENTRE HOJAS JUVENILES Y ADULTAS DE *Eucalyptus globulus* EN
PLANTACIONES AFECTADAS POR ENFERMEDAD FOLIAR
DE *Mycosphaerella***

Sánchez Marquez, S.¹, Bills, G.F.², Zabalgoeazcoa, I.¹

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (CSIC), Apartado 257, 37071 Salamanca. E-mail: i.zabalgo@irnasa.csic.es

² Fundación Medina. Parque Tecnológico Ciencias de la Salud, Armilla, 18100 Granada

En la actualidad la enfermedad foliar de *Mycosphaerella* (EFM) es endémica en plantaciones de *Eucalyptus globulus* en Galicia. La etiología de esta enfermedad es compleja, varias especies de *Mycosphaerella* y *Teratosphaeria* parecen ser los agentes causales. En los eucaliptales gallegos la severidad de EFM es mayor en árboles con hojas juveniles que en plantaciones de árboles adultos. El objetivo de este trabajo fue comparar la micobiota fúngica asociada a hojas juveniles y adultas en plantaciones afectadas por EFM. También se analizó la micobiota de hojarasca para comprobar si podría constituir un reservorio de inóculo de EFM. Se identificaron 119 especies distintas de hongos, 88 en hojas juveniles y 65 en adultas. La riqueza de especies en muestras de hojas juveniles fue significativamente mayor ($p > 0.01$) que en hojas adultas. Este resultado indica que la mayor severidad de EFM en hojas juveniles no se debe a su mayor susceptibilidad a patógenos asociados a EFM, sino a que estas hojas son más susceptibles de ser infectadas por una amplia gama de hongos. Por lo tanto, un mecanismo de resistencia general podría no existir o ser menos eficiente en hojas juveniles que en adultas. Un número significativo de especies potencialmente patógenas de hojas y ramas de *Eucalyptus* fueron identificadas en el censo. La micobiota de hojarasca fue muy distinta de la de hojas vivas, sin embargo algunas de las pocas especies comunes entre ambas fueron patógenos asociados a EFM, por lo que la hojarasca podría ser un reservorio de inóculo de la enfermedad.

PAN-39

**SELECCIÓN DE ÁRBOLES PLUS DE *Pinus pinaster*
TOLERANTES A *Armillaria ostoyae***

Aguín, O.¹, Solla, A.², Cubera, E.², Sampedro, L.³, Mansilla, J.P.¹, Zas, R.⁴

¹ Estación Fitopatológica do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra. E-mail: olga.aguin@depo.es

² Ingeniería Técnica Forestal. Universidad de Extremadura. Avenida Virgen del Puerto 2. 10600 Plasencia. E-mail: asolla@unex.es

³ Centro de Investigación Forestal de Lourizán. Apdo. 127, 36080 Pontevedra. E-mail: lsampe@uvigo.es

⁴ Misión Biológica de Galicia. CSIC. Apdo. 28. 36080 Pontevedra. E-mail: zas@cesga.es

Pinus pinaster es la especie forestal más utilizada para repoblar los montes de Galicia, y *Armillaria ostoyae* uno de sus patógenos más importantes que causa podredumbre blanca radicular y da lugar a la posterior muerte de los árboles. En este trabajo se estudió la tolerancia a *A. ostoyae* de 39 progenies de *P. pinaster*, procedentes de la colección de árboles plus «Galicia Costa», y de un lote control. Las semillas se sembraron en macetas de 5 L, utilizándose un diseño de 6 bloques al azar con 5 brinzales por maceta, progenie y bloque. En febrero de 2008, a la edad de 2 savias, las 1200 plantas se inocularon con una cepa de *A. ostoyae* aislada de raíces de *P. pinaster* recogidas en Cotobade (Pontevedra). La inoculación consistió en la colocación de 2 varetas por maceta (una de *P. pinaster* y otra de *Corylus avellana*) colonizadas por el patógeno, en contacto con las raíces de las plantas. La supervivencia de las familias se analizó estadísticamente mediante «time survival analysis». Tres meses después de la inoculación se observaron las primeras plantas muertas, obteniéndose máximos de mortalidad en junio y en octubre. La presencia del patógeno se constató en el 80% de las plantas muertas (950 aprox.). Las familias de *P. pinaster* evaluadas variaron significativamente en su tolerancia al ataque, evaluada ésta como el tiempo que los árboles son capaces de sobrevivir a la inoculación con el hongo. Treinta y dos brinzales sobrevivieron a las inoculaciones, y todos ellos presentaron micelio bajo la corteza. Estos árboles se transplantarán y volverán a inocular, de modo que tras la segunda inoculación se podrá contar con un material vegetal valioso tanto para el estudio de los mecanismos de defensa de *P. pinaster*, como para utilizar como parental ante repoblaciones en terrenos con riesgo de presencia de *A. ostoyae*.

PAN-40

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN Y ACTIVIDAD DEL SISTEMA ENZIMÁTICO DE PEROXIDASAS EN LA INTERACCIÓN TOMATE / *Meloidogyne javanica* COMPATIBLE E INCOMPATIBLE

Emiliozzi , M.¹, Veronico, P.², Melillo, M.T.², López-Braña, I.³ y Andrés M.F.¹

¹ Instituto de Ciencias Agrarias. CCMA. CSIC. c/ Serrano 115, 28006. Madrid

² Istituto per le Protezione delle Piante. CNR. c/ G. Amendola 165/A, 70126 Bari, Italia

³ Dpto de Biotecnología, ETSI Agrónomos, UPM, 28040-Madrid

En las reacciones defensivas de las plantas frente a un patógeno se producen multitud de respuestas, observándose entre otros fenómenos la inducción de un estallido oxidativo, en el que tienen especial relevancia las enzimas del grupo de las peroxidasas. El patrón de expresión diferencial de las diferentes peroxidasas (Ascorbato peroxidasas y peroxidasas Clase III específicas de plantas), obtenido tanto en la interacción incompatible trigo/*Heterodera avenae*, como en las células gigantes y agallas de plantas de la interacción compatible tomate/ *Meloidogyne*, sugiere que algunas de estas enzimas podrían estar estrechamente relacionadas con la respuesta de defensa frente al ataque de nematodos patógenos por su implicación en el establecimiento de barreras estructurales (proceso de lignificación), así como en la generación de ambientes altamente tóxicos, mediante la producción masiva de especies reactivas de oxígeno (ROS). Ambos procesos están directamente relacionados con la reacción hipersensible (HR) característica de la resistencia de la planta al ataque de organismos patógenos.

Por todo ello, en el presente trabajo se aborda el estudio comparativo de los patrones de expresión de genes que codifican peroxidasas en fase temprana de infección por *M. javanica* de tomate resistente (gen *Mi-1*) y susceptible, lo que es fundamental para determinar su función en la regulación de los mecanismos defensivos de la planta frente a la infección del nematodo.

A partir de la identificación de las peroxidasas descritas en la base de datos de tomate se han seleccionado aquellas que se inducen o reprimen en las células gigantes y agallas de tomate infectadas por *Meloidogyne* sp. en la interacción compatible, previamente caracterizadas por hibridación con micromatrices. El patrón de expresión de estas peroxidasas seleccionadas se analiza por qPCR en tomates portadores del gen *Mi-1* y se compara con su patrón en la interacción compatible. Por último, mediante *hibridación in situ*, se están localizando los transcritos de los genes con expresión diferencial, especialmente en la interacción incompatible.

PAN-41

**RESISTENCIA DE LA VARIEDAD LA1358 DEL TOMATE SILVESTRE
Solanum huaylasense A *Meloidogyne* spp.**

Cortada, L.¹, Manzano, P.¹, Sorribas, F. J.², Ornat, C.², Verdejo-Lucas, S.¹

¹ IRTA. Patología Vegetal. Crta. de Cabrils km 2, 08348 Cabrils, Barcelona

² Dpto. d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia. Universitat Politècnica de Catalunya. Edificio ESAB, Av. Canal Olímpico 15. 08860 Barcelona

Se realizaron pruebas de patogenicidad con el fin de determinar la resistencia del tomate silvestre *Solanum huaylasense* a cuatro poblaciones de *Meloidogyne* spp. Se evaluó la variedad LA1358 de *S. huaylasense*, el cultivar portador del gen Mi Anaris y el cultivar susceptible Bodar frente a tres poblaciones avirulentas para el gen *Mi* de las especies *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* y frente a una población naturalmente virulenta de *M. javanica*. El factor de reproducción del nematodo (FR), expresado como el número de huevos al final del ensayo respecto a los juveniles infectivos inoculados, se empleó como variable dependiente para determinar la variabilidad en la reproducción de las cuatro poblaciones de *Meloidogyne* analizadas. Los resultados indicaron que la variedad LA1358 de *S. huaylasense* redujo la reproducción de la población de *M. arenaria* de forma equiparable al cultivar resistente Anaris. El FR de la población de *M. incognita* sobre la variedad LA1358 fue muy variable y no difirió de la reproducción alcanzada en los cultivares de tomate empleados como controles, resistente o susceptible al nematodo. Sin embargo, la variedad LA1358 de *S. huaylasense* no inhibió la reproducción de las poblaciones avirulenta y naturalmente virulenta de *M. javanica*. En este trabajo se describe, por primera vez, la resistencia específica de la variedad LA1358 de *S. huaylasense*, especie de tomate recientemente descrita, a distintas especies de *Meloidogyne*. La identificación de nuevos genes de resistencia en tomates silvestres sería el primer paso para la agrupación piramidal de genes de resistencia en cultivares de tomate con la finalidad de preservar la durabilidad de la resistencia frente al nematodo.

PAN-42

**APLICACIÓN DE MARCADORES MOLECULARES
PARA LA RESISTENCIA A NEMATODOS EN EL GÉNERO *Solanum***

López, R., Barandalla, L., Ritter, E., Ruiz de Galarreta, J.I.

NEIKER-Tecnalia. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Apdo. 46. E-01080 Vitoria. E-mail: jiruiz@neiker.net

Los nematodos del quiste de la patata (*Globodera pallida* y *G. rostochiensis*) dañan las raíces y provocan pérdidas de hasta un 20% en algunas zonas productoras. Las plantas atacadas muestran un bajo desarrollo, ya que las raíces no pueden absorber el agua y las sustancias nutritivas que la planta necesita. Además afectan a la calidad del tubérculo y éstos no son aptos para su uso como semilla ya que servirán de fuente de inóculo y propagación de nematodos. Una manera efectiva y duradera de controlar esta plaga es la utilización de variedades resistentes a estos parásitos. Se han incorporado en la patata (*Solanum tuberosum* L.) genes de resistencia a nematodos procedentes de especies del género *Solanum*. El gen H1 confiere resistencia a *G. rostochiensis* (patotipos Ro1 y Ro4) y procede de *S. tuberosum* ssp. *andigena*.

El objetivo del presente trabajo ha sido la utilización de marcadores asociados a genes de resistencia en parentales y progenies derivadas del programa de mejora genética que se lleva a cabo en este Instituto.

Se han utilizado el marcador TG689 para el gen H1 y el SNP HC ligado al QRL (Quantitative Resistance Locus) para la presencia de la resistencia a los patotipos Pa2/3 de *G. pallida*. Para la validación del TG639, se analizaron 3 familias (A, B y G) en las cuales uno de los genitores era resistente a *G. rostochiensis*, además presenta el marcador. En el caso de *G. pallida*, se empleó una familia cuyo parental Innovator con resistencia a *G. pallida* era portador del QRL. Se realizaron los bioensayos, tras inoculación de ambos patógenos en las familias muestreadas para validar la presencia de los marcadores asociados. Asimismo, se probaron en una colección de variedades nativas de siete especies diferentes del género *solanum*.

Los resultados obtenidos confirman la utilidad de ambos marcadores, tanto el TG639 como el HC en las familias originadas con algún parental resistente de *S. tuberosum*. No así en las especies del género *solanum* probadas, donde no se observó una correlación clara entre la resistencia a ambos patógenos con los marcadores utilizados.

* *Agradecimientos*: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PAPASALUD (407PIC-0306) de la CYTED, por el INIA (RTA2008-00045-C02-01) y fondos FEDER.

PAN-43

RELACIONES INFECTIVAS *Meloidogyne incognita* y *Phytophthora* spp. EN PATRONES DE PIMIENTO

Ros, C.¹; Lacasa, C.M.¹; Martínez, V.²; Martínez, M.C.¹; Lacasa, A.¹

¹ IMIDA, Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia). E-mail: caridadros@carm.es

² Programa de Colaboración FECOAM-CAAMA, Caballero, 3. 30002 Murcia

Los principales patógenos del suelo en los invernaderos de pimiento del sureste español son *Meloidogyne incognita* y *Phytophthora* spp., desinfectando el suelo todos los años para su control. Se ha evaluado el injerto sobre patrones vigorosos y resistentes a uno o a ambos patógenos, como una alternativa a la desinfección,. En algunos invernaderos la reiteración sobre el mismo suelo de los patrones ha facilitado la selección de poblaciones del nematodo capaces de remontar la resistencia, no sucediendo lo mismo en lo concerniente a *Phytophthora*. En condiciones controladas, se ha estudiado la posible interacción de *M. incognita* en la infección por *P. capsici* y *P. parasitica* que pudiera comprometer la resistencia a los hongos. Se utilizaron 3 poblaciones de *M. incognita* de pimiento y un aislado de cada una de las especies de *Phytophthora*, también obtenidos de pimiento. La interacción se evaluó inoculando cada uno de los patógenos y ambos juntos a un cultivar comercial sensible (cv Sonar) y a diez patrones (C2, C19; C25, C28, C30, C45; C5, DRO 3403, RT12 y M1) que se comportan como resistentes a *P. capsici* y/o *M. incognita*. La instalación de *Phytophthora* spp. se vió facilitada por la lesiones provocadas por el nematodo en las raíces de los patrones resistentes al hongo, observándose una reducción en el desarrollo radicular y manchas necróticas, lo que no sucede cuando se inoculan por separado el nematodo y el hongo, pero no se produjeron síntomas de marchitez o «seca» de las plantas. El nematodo no pudo colonizar raíces de patrones inoculados con las cepas más agresivas del hongo, al estar muy alteradas. Dos poblaciones de nematodos presentaron mayor capacidad parasitaria produciendo abundantes nódulos en las raíces de los patrones supuestamente resistentes. La otra población no infestó los patrones resistentes, pero sí el cultivar sensible utilizado como contraste.

PAN-44

**COMPORTAMIENTO DE LOS GENES DE RESISTENCIA
A *Meloidogyne incognita* EN MONOCULTIVOS DE PIMIENTO
DEL SURESTE PENINSULAR**

Ros, C.¹; Martínez, M.C.¹, Cano, A.², Robertson, L.³, Cenis, J.L.¹, Lacasa, A.¹, Bello, A.³

¹ Biotecnología y Protección de Cultivos, IMIDA, C/Mayor s/n 30150, La Alberca Murcia. E mail: caridadros@carm.es

² SSVV. Consejería de Agricultura y Agua. /Mayor s/n 30150 La Alberca Murcia. E mail: a.cano@carm.es

³ Agroecología, Centro de Ciencias Mediambientales, CSIC, C/ Serrano 115, 28006 Madrid. E mail: antonio.bello@ccma.csic.es

Meloidogyne incognita, está ampliamente distribuido en los cultivos de pimiento de la Región de Murcia, donde es un monocultivo desde hace más de 20 años. Se plantea el empleo de portainjertos resistentes al nematodo como método de control debido a la prohibición del bromuro de metilo. Seleccionando aquellos patrones portadores de resistencia que mejor comportamiento ofrecían frente a las poblaciones de nematodos ligadas a este monocultivo, se evaluó, en condiciones controladas, el comportamiento de los genes de resistencia de siete patrones de empresas comerciales (Atlante, Snooker, Nemahard, C19, RT12 y DRO 8801) y dos experimentales (IMIDA 1 e IMIDA 2) comparándolos con dos cultivares comerciales sensibles (Sonar y Yolo Wonder), mediante la inoculación de dos poblaciones de *M. incognita*, aisladas de nuestra zona de cultivo, una de ellas virulenta. A su vez se detectaron los genes de resistencia presentes en estos patrones mediante técnicas moleculares, teniendo como referencia la identificación del gen *Me1* en la línea PI 201234; el gen *Me3* en la línea PI 322719 y el gen *Me7* en la línea CM334. Todos los portainjerto resultaron ser resistentes a la población avirulenta del nematodo independientemente de los genes de resistencia que portaran, sin embargo, hubo diferencias en la resistencia frente a la población virulenta, según el gen o los genes de los que era portador cada uno.

PAN-45

EFFECTO DE AISLADOS AUTÓCTONOS DE NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS SOBRE EL DESARROLLO DE *Meloidogyne* spp. EN TOMATE

Abd-Elgawad, M. M. M.¹, Sorribas, F. J.², Ornat, C.²

¹ Department of Phytopathology NRC , El-Tahrir St., Dokki 12622Giza, Egypt

² DEAB-UPC, Esteve Terrades 8, 08860 Castelldefels. cesar@ornat@upc.edu

Se determinó el efecto de nematodos entomopatógenos (EPN) autóctonos sobre el desarrollo de *Meloidogyne javanica* en tomate en contenedor. Los ensayos se llevaron a cabo en Barcelona y en El Cairo con EPN aislados en los respectivos países de parcelas de cultivo hortícola y frutales por el método de la trampa de *Galleria mellonella*. Los EPN aislados en España pertenecían al género *Steinernema*, mientras que los aislados de Egipto eran *Heterorhabditis bacteriophora*. Se realizaron dos ensayos, uno en Egipto y otro en España, consistente en concentraciones crecientes de EPN de: 0, 1, 5 y 10 juveniles infectivos de *Heterorhabditis bacteriophora* por cm³ de suelo en Egipto, y de 0, 1, 500, 1 000, 5 000 y 10 000 juveniles infectivos de *Steinernema* spp. por cm³ de suelo en España. Se incluyeron aislados comerciales de *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* para comparar. Los ensayos se realizaron en macetas de un litro de capacidad que contenía arena esterilizada como sustrato. El suelo se inoculó con los EPN y con juveniles de *Meloidogyne javanica*. Seguidamente se trasplantaron las tomateras y se mantuvieron el tiempo suficiente para que *Meloidogyne* completase una generación. Al final del ensayo se contabilizaron el número de masas de huevos/planta en Egipto y el número de huevos/planta en España. El desarrollo de las poblaciones de *M. javanica* en los suelos inoculados con EPN fue similar a la de los suelos no inoculados. Ni la especie de EPN utilizada en el ensayo (*Steinernema* o *Heterorhabditis bacteriophora*), ni el origen (autóctono o comercial), ni la densidad de infestación tuvieron efecto sobre el desarrollo de *Meloidogyne*.

* Este trabajo ha sido financiado con fondos AECl-PCI-Mediterráneo A/017988/08.

PAN-46

COMPARACIÓN ENTRE ENSAYOS BIOLÓGICOS Y MOLECULARES DE RESISTENCIA A ENFERMEDADES EN HORTÍCOLAS

Elvira-Recuenco, M.; Moyano, C.; Herradón, E.; Liñán, M.; Paz, L.M.

Laboratorio de Sanidad y Laboratorio de Técnicas Biomoleculares. Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero, Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorios, Ctra. La Coruña Km. 7.5, 28040 Madrid.

La Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorios (DTEVL), ubicada en el INIA, realiza entre otros trabajos, los ensayos de identificación de variedades, preceptivos para el registro de variedades comerciales o para la protección de obtenciones vegetales, por encargo de la Oficina Española de Variedades Vegetales. Para ello, es necesaria la evaluación de la distinción, homogeneidad y estabilidad de las variedades, lo cual engloba una serie de ensayos, entre los que se encuentran los de determinación de resistencia a enfermedades que se realizan en el Laboratorio de Sanidad mediante ensayos biológicos. En la actualidad, algunas de estas determinaciones en las especies de tomate y pimiento se están realizando en colaboración con el Laboratorio de Técnicas Biomoleculares, aprovechando los avances en la determinación de genes de resistencia a enfermedades mediante marcadores moleculares. La finalidad es comprobar si existe correlación entre los resultados biológicos y moleculares, y si las técnicas moleculares podrían servir de apoyo a la interpretación de los resultados obtenidos en los ensayos biológicos e, incluso, poder llegar a sustituirlos en un futuro. Concretamente se están realizando ensayos para la determinación de la resistencia a los patógenos *Meloidogyne incognita*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Tomato Mosaic Virus*, en tomate, y para *Tomato Spotted Wilt Virus*, en pimiento.

Los ensayos biológicos de resistencia se realizan utilizando como guía los protocolos desarrollados por la CPVO (Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales). Algunos de estos protocolos se revisaron en el proyecto «*Harmonization of resistance tests to diseases of vegetable crops in the European Union*». Para la determinación de la resistencia mediante marcadores moleculares en tomate se están utilizando los protocolos desarrollados dentro del proyecto «*Development and evaluation of molecular markers linked to disease resistance genes for tomato DUS testing (option 1^a)*». Estos proyectos fueron financiados por la CPVO, en los que participaron la DTEVL y la Unidad de Genómica y Proteómica del INIA, junto con diferentes laboratorios de Francia y Holanda. La determinación de resistencia al *Tomato Spotted Wilt Virus* en pimiento mediante marcadores moleculares se ha basado en el protocolo publicado por B. Moury et al., en 2000. Las conclusiones sobre esta comparativa: ensayos biológicos *versus* moleculares, permitirá mejorar la eficiencia y precisión en la determinación de resistencia a enfermedades para la identificación de variedades.

PAN-47

**PROPIEDADES DE UNIÓN AL ARN VIRAL DE LA PROTEÍNA 3a
DEL VIRUS DEL MOTEADO DE LA PARIETARIA**

Martínez, C.¹, Coll, N.¹, Aramburu, J.¹, López, C.², Soler, S.² y Galipienso, L.¹

¹ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Centro de Cabrils. Ctra Cabrils Km 2, 08348 Cabrils (Barcelona). E-mail: luis.galipienso@irta.es

² Centro de Conservación y Mejora de la Comunidad Valenciana (COMAV). Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: clopez@upvnet.upv.es

El virus del moteado de la parietaria (*Parietaria mottle virus*, PMoV) es un miembro del género *Ilarvirus* (familia *Bromoviridae*). PMoV se aisló por primera vez en Italia a partir de plantas de parietaria (*Parietaria officinalis*) y posteriormente se detectaron aislados del virus en cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*) y pimiento (*Capsicum annuum*) en los que causaban una reducción de la producción. PMoV se distribuye por diversos países de la cuenca mediterránea, habiéndose descrito infecciones en algunas regiones de Italia, Grecia y sur de Francia y en la zona sur y este de España.

El movimiento de los virus de plantas entre células adyacentes tiene lugar a través de unas estructuras celulares llamados plasmodesmos. Estos virus poseen secuencias que codifican para la síntesis de proteínas que interaccionan con el ácido nucleico viral y con proteínas de los plasmodesmos, actuando de intermediarios en la circulación del virus entre células contiguas. Por tanto, una característica de este tipo de proteínas es la de poseer la capacidad de unirse a los ácidos nucleicos. En este trabajo hemos comprobado mediante ensayos de unión *in vitro* que la proteína 3a que codifica PMoV tiene capacidad de unirse a un transcrito del ARN viral. Hasta el momento, los ensayos realizados con el objetivo de identificar el o los dominios de unión del ARN con la proteína 3a han mostrado que tanto la mitad amino como la carboxilo de la proteína tiene capacidad de unirse al ARN. De confirmarse este resultado, sería la primera descripción de un virus perteneciente a la familia *Bromoviridae* que codifica para una proteína de movimiento célula a célula con varios dominios de unión con el ARN viral, localizados en ambos extremos de la misma.

* Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA2006-00024-C02-01 (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria).

PAN-48

**ACUMULACIÓN EN PLANTA Y TRANSMISIÓN POR TRIPS
DE AISLADOS DEL VIRUS DEL BRONCEADO DE TOMATE (TSWV)
QUE SUPERAN LA RESISTENCIA CONFERIDA POR LOS GENES *Sw-5*
DE TOMATE Y *Tsw* DE PIMIENTO**

Debreczeni, D. E.¹, Belliure, B.¹, Aramburu, J.², López, C.³, Galipienso, L.², Soler, S.³, Rubio, L.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia

² Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentariès (IRTA), 08348 Cabrills, Barcelona

³ Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana-Universidad Politécnica de Valencia (COMAV-UPV), 46022 Valencia

El virus del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) produce cuantiosas pérdidas económicas en diversos cultivos hortícolas de todo el mundo. En España, TSWV había dejado de ser un problema con el cultivo de variedades de tomate y pimiento con los genes de resistencia *Sw-5* y *Tsw* respectivamente. Sin embargo, hace unos años se detectaron aislados de TSWV capaces de superar estas resistencias. Para averiguar si la superación de la resistencia supone un cambio en la eficacia biológica del virus tanto en su multiplicación en planta como en su dispersión por trips, se realizaron ensayos biológicos con aislados de TSWV capaces e incapaces de infectar variedades resistentes de tomate y pimiento. En primer lugar, se evaluó la infectividad y la multiplicación viral en plantas de datura (*Datura stramonium*) mediante RT-PCR cuantitativa. Se observaron variaciones en la acumulación de cada aislado en plantas distintas, pero no se hallaron diferencias significativas en la acumulación entre aislados o tipos de aislados. Asimismo, se realizaron ensayos de transmisión de estos aislados con el trips *Frankliniella occidentalis*. Se observó una ausencia de correlación entre la cantidad de virus que había en las plantas fuente y su tasa de transmisión (porcentaje de trips virulíferos). Aunque se encontraron diferencias en la tasa de transmisión para distintos aislados, ésta no estuvo relacionada con el biotipo (capacidad de superar resistencias) de los aislados analizados. Todo ello sugiere que la capacidad de superar la resistencia de los genes *Sw-5* de tomate o la resistencia *Tsw* de pimiento no parece tener un efecto en la eficacia del virus tanto en su infección de plantas de datura como en su capacidad de dispersión por *F. occidentalis*.

* Este trabajo forma parte del proyecto RTA2008-00010-C03 financiado por el INIA.

PAN-49

**REQUERIMIENTOS ESTRUCTURALES
PARA LA INSERCIÓN Y SALIDA DEL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO
DE UNA PROTEÍNA DE MOVIMIENTO VIRAL Y SU INFLUENCIA
EN EL MOVIMIENTO DEL VIRUS**

Serra-Soriano, M., Pallás, V., Navarro, J. A.

Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (UPV-CSIC). Ingeniero Fausto Elio, s/n. 46022 Valencia. E-mail: janavarr@ibmcp.upv.es

Los virus de plantas requieren la intervención de una serie de factores proteicos propios conocidos como proteínas de movimiento (MPs) para progresar célula a célula, alcanzar el sistema vascular y lograr una invasión generalizada de la planta. Estas MPs dirigen el transporte del virus desde el punto de infección primario hasta las células vecinas interaccionando directamente con los viriones o con intermediarios ribonucleoproteicos. No obstante, estos elementos móviles tienen que atravesar la pared celular para llegar a las células vecinas siendo los plasmodesmos (PD) la única vía de comunicación plasmática que existe entre las células vegetales. La interacción de las MPs con el sistema de endomembranas celular es un fenómeno decisivo que ocurre durante este proceso patogénico. En muchas MPs, la capacidad de insertarse en la membrana depende de la presencia de dominios hidrofóbicos que pueden inducir o no modificaciones en la morfología del retículo endoplasmático (RE), la envoltura nuclear y otros orgánulos. p7B es una de las dos MPs implicadas en el movimiento célula a célula del virus de las manchas necróticas del melón (MNSV). Esta proteína inicia su camino hacia el plasmodesmo (PD) insertándose en la membrana del RE para después ser exportada al aparato de Golgi (AG). Desde el AG la MP alcanzaría el PD en un proceso desconocido aún y que abre nuevas perspectivas de estudio. Mediante ensayos de expresión transitoria en planta se ha determinado que la secuencia de aminoácidos de su único dominio hidrofóbico permite la asociación de la proteína de fluorescencia verde (GFP) a la membrana del RE aunque esta proteína recombinante pierde la capacidad de ser exportada permaneciendo retenida en el RE. Este resultado sugiere que la salida de p7B de este compartimento celular se realiza de manera activa y que puede ser controlada por secuencias de estructura primaria y/o secundaria localizados en sus pequeños dominios citoplásmico y luminal. En este trabajo se ha caracterizado el papel de estas regiones en la salida de p7B del RE así como el efecto que tiene su modificación en el transporte intracelular de esta proteína y en el movimiento célula a célula del MNSV.

PAN-50

**DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN VECTOR DE TRANSFORMACIÓN
PRECURSOR DE RNA INTERFERENTE FRENTE A MOTIVOS
CONSERVADOS DEL EXTREMO 5' DEL VIRUS DE LA TRISTEZA
DE LOS CÍTRICOS**

Chiibi, S.^{1,2}, Soler, N.², Fagoaga, C.², Bouzid, S.¹ y Peña, L.²

¹ Faculty of Sciences of Tunis. Campus Universitaire 2092 El Manar. Tunis

² Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Carretera Moncada-Náquera, Km. 4,5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: lpenya@ivia.es

El virus de la tristeza de los cítricos (CTV) es el agente causal de la tristeza, enfermedad que ha provocado la muerte de más de 100 millones de árboles cítricos injertados sobre naranjo amargo, en el mundo. Además, las cepas más agresivas del virus causan daños en naranjo dulce, pomelo y lima, independientemente del portainjertos sobre el que se encuentren. Nuestro objetivo es la obtención de plantas transgénicas de cítricos resistentes a CTV mediante la incorporación de secuencias virales que actúen como inductoras de silenciamiento génico post-transcripcional (PTGS) mediante interferencia de RNA (RNAi). Por una parte, nuestro laboratorio está trabajando con construcciones tipo horquilla que contienen secuencias precursoras no traducibles de uno o varios de los genes virales *p25*, *p20* y *p23*, supresores de silenciamiento del virus en *Nicotiana benthamiana*, que se encuentran localizados en el extremo 3' del genoma viral. Por otra parte, pretendemos silenciar la expresión de regiones conservadas del extremo 5' (5'-UTR) del genoma viral, englobadas en, o muy próximas a, dominios que son necesarios tanto para la replicación como para el ensamblaje de las partículas virales. En primer lugar, hemos buscado secuencias idénticas en fragmentos de al menos 50 nucleótidos (nts) en 9 cepas representativas de los 3 grupos de secuencias (en base a 5'-UTR) de CTV: *I* {T30 y T385}, 57 nts; *II* {T318, VT, NUaga, SY568}, 417 nts; y *III* {T36, Mexico, Qaha}, 74 nts. Se ha elegido una secuencia de cada grupo, de manera que las tres son idénticas entre las cepas del mismo grupo y muy similares en las cepas de los otros grupos. Con estas tres secuencias de 5'-UTR de CTV se ha generado un fragmento de 588 nts, que se ha dispuesto en sentido-intrón-antisentido en el vector binario pHellsgate 8 bajo el control del promotor 35S de CaMV y el terminador OCS, utilizando la tecnología Gateway. El plásmido pHellsgate8-dsRNA-5'CTV se ha introducido en la cepa EHA105 de *Agrobacterium tumefaciens* mediante electroporación y se han realizado varios experimentos de transformación genética de lima mexicana. Se han generado más de 10 líneas transgénicas independientes que se están actualmente propagando en el invernadero para desafiarlas con CTV.

PAN-51

LA SOBRE-EXPRESIÓN CONSTITUTIVA DEL GEN p20 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS (CTV) EN PLANTAS TRANSGÉNICAS DE LIMA MEXICANA INDUCE ABERRACIONES EN DESARROLLO

Romero J., Fagoaga, C., Peña, L.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (I.V.I.A.). Ctra. Moncada-Náquera Km. 4,5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: cfagoaga@ivia.es

El virus de la tristeza de los cítricos (CTV) pertenece al género *Closterovirus*, su gama de huéspedes naturales se restringe a Rutáceas y posee el genoma más largo de todos los virus RNA de plantas. Su genoma (19.3 kb) es una molécula de RNA de simple cadena y polaridad positiva organizada en 12 pautas de lectura abierta (ORF), que codifican al menos 17 productos proteicos, y presenta regiones no traducibles en los extremos 5' y 3' de 107 y 273 nts, respectivamente. Las ORF 1a y 1b codifican proteínas del complejo replicativo y las ORF 2 a 11 codifican las proteínas p33, p6, p65, p61, p27, p25, p18, p13, p20 y p23 que se traducen a partir de RNA subgenómicos 3'-cotermiales. La proteína p20 (de 20 kDa) es codificada por una ORF próxima al extremo 3' del genoma, no es requerida para la replicación ni para la encapsidación viral y se acumula a altos niveles en tejidos infectados. Presenta una alta afinidad por si misma, por lo que forma agregados en las células infectadas que constituyen característicos cuerpos amorfos de inclusión. Además, la p20 es uno de los tres supresores de silenciamiento de CTV, junto a p25 y p23, en plantas de *Nicotiana benthamiana* y *N. tabacum*, en las que actúa como supresor tanto a nivel intra como intercelular. En trabajos anteriores hemos demostrado que la sobreexpresión de p23 en plantas transgénicas de lima mexicana (*Citrus aurantifolia* Swing.) induce aberraciones en desarrollo que se asemejan a los síntomas producidos por CTV en plantas infectadas. Con el fin de explorar los efectos que la sobreexpresión de p20 en lima mexicana, se han generado 10 líneas transgénicas independientes que portan un transgén precursor de p20 bajo el control del promotor 35S del *Virus del mosaico de la coliflor* (CaMV). La expresión ectópica de la proteína p20 ha inducido fenotipos aberrantes en algunas de las líneas transgénicas, con alteraciones en desarrollo semejantes a las que producía la sobre-expresión de p23, como punteaduras cloróticas, aclaramiento nervial intenso y epinastia, y otras alteraciones muy diferentes tanto a las inducidas por p23 como a los síntomas típicos de CTV en este huésped, como deformaciones de hojas, necrosis de las ramillas y caída de hojas. Estos resultados muestran que la proteína p20 de CTV, al igual que p23, es un determinante de la patogénesis viral en su huésped natural.

PAN-52

EL DOMINIO CONSERVADO DE DEDO DE ZINC Y LOS MOTIVOS BÁSICOS ADYACENTES DEL SUPRESOR DE SILENCIAMIENTO p23 DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS (CTV) SON NECESARIOS PARA LA PATOGENESIS EN PLANTAS DE LIMA MEXICANA TRANSGÉNICA

Soler, N.¹, Fagoaga, C.¹, López, C.², Moreno, P.¹, Navarro, L.¹, Flores, R.², Peña, L.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Carretera Moncada-Náquera, Km. 4,5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: lpenya@ivia.es

² Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV), Universidad Politécnica, Avenida de los Naranjos, 46022, Valencia

El silenciamiento de RNA es un mecanismo específico de secuencia implicado en la regulación de la expresión de genes endógenos y en la defensa frente a virus en eucariotas. Por su parte, los virus codifican proteínas capaces de suprimir el silenciamiento de RNA. El virus de la tristeza de los cítricos (CTV) pertenece al género *Closterovirus*, su gama de huéspedes naturales se restringe a Rutáceas y posee el genoma más largo de todos los virus RNA de plantas. Codifica 3 proteínas que actúan como supresores de silenciamiento en *Nicotiana benthamiana*: p23, p25 y p20. La primera inhibe el silenciamiento intracelular, la segunda el movimiento intercelular de la señal de silenciamiento, y la tercera actúa a ambos niveles. La proteína p23, que no posee homólogas en otros closterovirus, es una proteína de unión a RNA con motivos ricos en cisteína e histidina formando un putativo dominio dedo de zinc flanqueado por motivos básicos que regulan el balance de cadenas positivas y negativas de RNA durante la replicación viral. La expresión ectópica de p23 en plantas transgénicas de cítricos induce aberraciones en el desarrollo que se asemejan a los síntomas producidos por la infección de CTV en lima mexicana (*Citrus aurantifolia*) y otros genotipos cítricos. Para definir mejor el papel de p23 en la patogénesis de CTV, hemos transformado plantas de lima mexicana con el gen p23 de la cepa T36 de CTV y con tres versiones truncadas de la misma bajo el control del promotor 35S del *Virus de mosaico de la coliflor* (CaMV). Mientras que la expresión del fragmento que comprende los primeros 99 aminoácidos de la proteína p23 (p23-Δ99) no inducía aberraciones morfológicas en las plantas transgénicas, la expresión de los primeros 157 aminoácidos (p23-Δ157) producía aberraciones morfológicas parecidas a los síntomas inducidos por CTV, muy similares, aunque más suaves, a las resultantes de la sobreexpresión de la proteína p23 entera (209 aminoácidos). La delección del fragmento que comprende desde el aminoácido 50 al 86 (p23-ΔZn) anulaba la inducción de síntomas, delimitando la región responsable de la patogénesis de p23 en cítricos a un fragmento de 107 aminoácidos, que incluye el dedo de zinc y los motivos básicos adyacentes.

PAN-53

**CARACTERIZACIÓN DE UNA PROTEÍNA RELACIONADA
CON LA PATOGÉNESIS PR-4 DE *Capsicum chinense* L³L³
CON ACTIVIDAD RNAsa Y DNAsa**

Guevara-Morato, M.A., García de la Coba, M., García-Luque, I., Serra-Yoldi, M.T.

Departamento de Biología Medioambiental. CIB. CSIC. C/ Ramiro de Maeztu n.º 9. 28040 Madrid. E-mail: mserra@cib.csic.es

La resistencia conferida por el gen L³ de *Capsicum* spp. es activa frente a la mayoría de los tobamovirus, incluyendo la cepa española del virus del moteado suave del pimiento, (PMMoV-S), pero no es activa frente a los patotipos P_{1'2'3'}, tales como la cepa italiana de dicho virus, o el patotipo P_{1'2'3'4'}.

PMMoV-S induce una reacción hipersensible en las hojas inoculadas de las plantas de *C. chinense* PI159236 que se manifiesta por la producción de lesiones locales necróticas y la restricción del virus a los lugares de infección primarios.

Hemos identificado una proteína PR-4 de *C. chinense* que se induce en ambas interacciones, compatible e incompatible; si bien su expresión se incrementa notablemente durante la inducción de la HR, y sólo se detecta en la reacción compatible en los estadios tardíos de la infección.

Hemos observado también que su expresión se asocia a la respuesta necrogénica inducida por el virus X de la patata (PVX) en las hojas sistémicas de *C. chinense*.

La proteína pertenece al subgrupo II de las PR-4 por cuanto que carece del dominio heveina.

Hemos determinado que la proteína PR-4 de *C. chinense* no tiene actividad quitinasa, pero que posee tanto actividad DNAsa como RNAsa, siendo la primera vez que se detecta la actividad DNAsa para una proteína PR.

Mediante análisis en gel de dichas actividades, hemos podido establecer que su contribución al total de ambas actividades en la planta es baja.

PAN-54

**RESISTENCIA A VIRUS EN PLANTAS DE MELÓN
EN LAS QUE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR EUCARIÓTICO
DE INICIACIÓN DE LA TRADUCCIÓN 4E (eIF4E) ESTÁ SILENCIADA**

Gosálvez, B., Rodríguez-Hernández A.M., Burgos, L., Aranda, M.A., Truniger, V.

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC),
Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Apdo. Correos 164,
30100 Espinardo, Murcia. E-mail: truniger@cebas.csic.es

El clonaje y caracterización de genes recesivos de resistencia ha señalado a los factores de iniciación de la traducción de la familia 4E (eIF4E) de diversos huéspedes como factores de susceptibilidad requeridos por una amplia gama de virus. En este trabajo hemos conseguido líneas transgénicas de melón cuya expresión de eIF4E está reducida mediante silenciamiento post-transcripcional, y hemos estudiado la susceptibilidad de éstas frente a virus que infectan melón. El silenciamiento fue inducido por construcciones de tipo «hairpin» que expresaban un RNA bicatenario dirigido contra 175 nucleótidos del RNA mensajero (mRNA) de *eIF4E* de melón de una región no conservada en isoformas de eIF4E. Estas construcciones se utilizaron para transformar plantas de melón de la entrada BGV-130, que es susceptible a todos los virus analizados hasta ahora. De una planta transformante independiente diploide (T0) se obtuvieron por autofecundación las generaciones T1 y T2. Grupos de aproximadamente 10 individuos de una generación T2 segregante se analizaron para identificar la presencia del transgén, cuantificar la acumulación de mRNAs de *eIF4E* y *eIF(iso)4E*, determinar la aparición de pequeños RNAs (sRNAs) derivados del transgén, y estudiar su susceptibilidad a virus. Los resultados de estos análisis han mostrado que la acumulación de mRNA de *eIF4E* estaba reprimida en las plantas transgénicas y que tan solo éstas expresaban sRNAs derivados del transgén; por tanto, la reducción de la expresión de *eIF4E* era probablemente el resultado de la degradación de su mRNA. En esas mismas plantas, la acumulación del mRNA de *eIF(iso)4E* no estuvo alterada en comparación con plantas no transformadas, demostrando la especificidad del silenciamiento inducido. Las plantas transgénicas silenciadas para eIF4E resultaron ser resistentes al virus de las manchas necróticas del melón y al virus del mosaico amarillo del calabacín, parcialmente resistentes al virus del mosaico de la sandía y susceptibles al virus del mosaico del pepino, al virus de las manchas anulares de la papaya y al virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgones.

PAN-55

DESARROLLO DE UN VECTOR VIRAL DERIVADO DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE

Sempere, R.N.^{1,2}, Gómez, P.^{1,3}, Truniger, V.¹, Aranda, M.A.¹

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Apdo. correos 164, 30100 Espinardo, Murcia. E-mail: m.aranda@cebas.csic.es

² Bioprodin SL, Edificio CEEIM, Campus de Espinardo s/n, 30100 Espinardo, Murcia. E-mail: raqueln.sempere@gmail.com

³ Dirección actual: Departamento de Zoología, Universidad de Oxford, Oxford OX1 3PS, UK. E-mail: pedro.gomezlopez@zoo.ox.ac.uk

El virus del mosaico del pepino dulce (*Pepino mosaic virus*, PepMV) pertenece al género *Potexvirus* de la familia *Flexiviridae* de virus de plantas. Su genoma está compuesto por una cadena de RNA de sentido positivo de 6,4 kb y codifica 5 marcos de lectura abiertos. El objetivo principal de este trabajo fue la generación de un vector viral de plantas a partir de PepMV para (1) la expresión transitoria de proteínas de interés industrial o farmacéutico y (2) el desarrollo de un virus seleccionable útil en escrutinios de alto rendimiento de colecciones de plantas mutagenizadas. PepMV reúne varias características que lo hacen un buen candidato para ser utilizado como vector de expresión, entre ellas cabe destacar que posee un genoma pequeño, se acumula a altos niveles en las plantas inoculadas y los síntomas que induce en las plantas infectadas son suaves y no conducen a la muerte de éstas. Como paso previo al desarrollo de un vector de expresión, generamos un clon agroinfectivo de PepMV, denominado pBPepXL6. Tras agroinfiltración, pBPepXL6 fue capaz de reproducir la misma sintomatología que el virus parental en plantas de *Nicotiana benthamiana*. A continuación, exploramos diferentes estrategias para la expresión del gen de interés (en este caso *GFP*). En primer lugar, generamos mutantes de PepMV en los que reemplazamos el gen que codifica la proteína de la cápsida (CP) por *GFP*. El análisis de estos virus mutantes mostró que PepMV posee un genoma capaz de soportar la expresión de un gen foráneo como *GFP* y que la CP es necesaria para el movimiento célula a célula. Además, la aportación de la CP en *trans* mostró que es posible restaurar el movimiento de virus mutantes que no expresan la CP. En segundo lugar, exploramos la expresión de *GFP* a través de la duplicación del promotor subgenómico de la CP. Esta estrategia dió lugar a vectores capaces de expresar *GFP* y de infectar sistémicamente plantas de *N. benthamiana*. Sin embargo, estos vectores resultaron ser inestables *in planta* perdiendo el gen *GFP* a 10 dpi. Por último, se generó un vector en el cual se fusionó *GFP* a *CP* utilizando el péptido autocatalítico 2a del Virus de la fiebre aftosa. Este vector fue capaz de infectar sistémicamente plantas de *N. benthamiana* y tomate y de expresar *GFP* de un modo estable.

PAN-56

INFECCIONES VIRALES Y RESISTENCIA A VIRUS EN POBLACIONES NATURALES DE *Arabidopsis thaliana*

Montes, N.¹, Pagán, I.¹, Fraile, A.¹, Alonso-Blanco, C.², y García-Arenal, F.¹

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas UPM-INIA y ETSI Agrónomos (UPM). Campus Montegancedo, Pozuelo de Alarcón. 28223 Madrid. E-mail: fernando.garciaarenal@upm.es

² Departamento de Genética Molecular de Plantas, Centro Nacional de Biotecnología CNB-CSIC, Campus Universidad Autónoma, Cantoblanco. Madrid

Con frecuencia se asume que las infecciones virales provocan daños en las plantas y que plantas y virus coevolucionan. La evidencia de coevolución virus-planta deriva de los ecosistemas agrícolas en los que las poblaciones virales varían en respuesta a la manipulación humana de los huéspedes. Sin embargo, el análisis de coevolución huésped-patógeno requiere el estudio de sistemas en los que se pueda analizar dicha evolución en respuesta a la selección ejercida por el virus sobre el huésped y viceversa. Para desarrollar este sistema, hemos seleccionado *Arabidopsis thaliana* que es el modelo en genética molecular y ecología de plantas. Nuestro objetivo era determinar si las poblaciones silvestres de *A.thaliana* presentaban infecciones virales y comprobar si las condiciones necesarias para que se de la coevolución aparecen en el sistema: i) el resultado de la interacción huésped-patógeno depende de la combinación de los genotipos del huésped y el patógeno implicados, ii) existencia de variación genética en caracteres relevantes del huésped y del patógeno y iii) existencia de efectos recíprocos en los rasgos relevantes para la interacción sobre la eficacia de huésped y patógeno. Durante cuatro años se han analizado las infecciones de cinco virus (*Cucumber mosaic virus*, CMV; *Cauliflower mosaic virus*, CaMV; *Turnip crinkle virus*, TCV; *Turnip mosaic virus*, TuMV, and *Turnip yellow mosaic virus*, TYMV) en seis poblaciones naturales de *A.thaliana* pertenecientes a distintos hábitats del centro de España. La prevalencia viral mostró grandes diferencias entre años y entre diferentes épocas dentro de un mismo año, pero no entre las seis poblaciones. CMV fue el virus más prevalente, seguido por CaMV y TuMV, pero las infecciones con CMV y CaMV fueron detectadas más frecuentemente en todos los lugares y años. Los valores de incidencia fueron elevados y el análisis conjunto de la incidencia y la demografía del huésped reveló que la incidencia fue máxima cuando las plantas eran jóvenes, independientemente de la fase, vegetativa o reproductiva. Esto sugiere un posible efecto de la infección en la dinámica de las poblaciones del huésped. Así, se utilizaron dos aislados de cada virus, uno caracterizado y otro procedente de *A. thaliana*. El análisis de la resistencia/susceptibilidad a la infección de virus en dos poblaciones de *A. thaliana* genotipadas mediante SNPs y SSRs indicó gran variación en cuanto a la resistencia y una selección diferente sobre la resistencia a diferentes especies de virus y genotipos. Nuestros resultados indican que las dos primeras condiciones para que haya coevolución se cumplen y sugieren que la infección por virus podría tener un papel sobre la estructura genética del huésped.

PAN-57

**TRANSMISIÓN EXPERIMENTAL DEL VIRUS DE LA TRISTEZA
DE LOS CÍTRICOS A UN HUÉSPED NO NATURAL
(*Nicotiana benthamiana*)**

Ambrós, S., Moreno, P.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), CPVyB. 46113 Moncada, Valencia. E-mail: sambros@ivia.es

De forma natural *Citrus tristeza virus* (CTV), género *Closterovirus*, sólo infecta el floema de algunas rutáceas (principalmente de los géneros *Citrus* y *Fortunella*), si bien se ha descrito la transmisión experimental por pulgones a especies del género *Passiflora*. Recientemente hemos conseguido infectar sistémicamente plantas de *N. benthamiana*, una especie no-huésped del virus, mediante agroinoculación de un clon infeccioso del aislado CTV-T36 (Florida). La infección es sintomática y no está restringida al floema como en los cítricos. Para determinar la capacidad de CTV de infectar y moverse en *N. benthamiana* sin mediar la agroinfección, hemos explorado la transmisión del virus a este huésped mediante inoculación mecánica o por injerto. En los experimentos iniciales, ni la transmisión por injerto a partir de *N. benthamiana* infectada sistémicamente, ni la transmisión mecánica con extractos brutos o semi-purificados de viriones (de cítricos o de *N. benthamiana*) dieron lugar a infección sistémica en plantas de *N. benthamiana* sin tratamientos previos. Sin embargo, en plantas pre-tratadas con los supresores del silenciamiento p19 de TBSV, o p23 de CTV, e inoculadas mecánicamente con viriones semi-purificados de cítricos o de *N. benthamiana* mediante centrifugación en gradiente de sacarosa, se obtuvo una infectividad del 20-50%. A su vez, la selección cuidadosa del material vegetal para los injertos y la agroinfiltración previa con el supresor p19, permitió la infección sistémica de *N. benthamiana* por injerto con una eficiencia de hasta el 50%. El seguimiento de la infección se efectuó mediante ELISA, fluorescencia en el caso del virus marcado con *gfp* y RT-PCR cuantitativa. En la mayoría de los casos se observó un retraso importante en el inicio de la infección sistémica, que no se detecta hasta 2-6 meses post-inoculación, si bien la sintomatología, distribución del virus y acumulación final fueron similares a los de las plantas agroinfectadas. Ésta es la primera vez que se transmite experimentalmente CTV a una especie no huésped (*N. benthamiana*) sin ayuda de la agroinoculación. El procedimiento desarrollado permitirá abordar otros estudios como las interacciones virus-huésped o la posible adaptación de CTV a *N. benthamiana*.

PAN-58

**ESTUDIO DE LA ADAPTACIÓN DEL VIRUS DE LA TRISTEZA
DE LOS CÍTRICOS A UN HUÉSPED NO NATURAL
(*Nicotiana benthamiana*)**

Navarro-López, J.¹, Ruiz-Ruiz, S.², Moreno, P.¹, Ambrós, S.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), CPVyB, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: navarro_joslop@gva.es

² Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), UPV-CSIC, 46022 Valencia

Citrus tristeza virus (CTV) es un closterovirus con un RNA genómico de ~20 Kb cuyo único huésped natural son los cítricos, en los que produce una infección restringida al floema. Recientemente hemos desarrollado un sistema genético de CTV basado en la agroinfección sistémica de *N. benthamiana*, una especie no-huésped, utilizando clones infecciosos del aislado T36 (Florida), con o sin el gen marcador *gfp*. Para determinar si la replicación e invasión sistémica de CTV en *N. benthamiana* puede producir acumulación de mutaciones y/o modificar sus características biológicas, hemos iniciado un estudio de estabilidad de los clones agroinfiltrados amplificando mediante RT-PCR grandes fragmentos que cubren todo el genoma y analizando la variabilidad genética generada *de novo* en estas plantas. La secuencia consenso de la población viral del primer pase de ambos linajes, no mostró ningún cambio con respecto a los clones originales. Para analizar la posible adaptación del virus a este nuevo huésped hemos realizado pases sucesivos en *N. benthamiana* desarrollando un sistema eficaz de inoculación por injerto que permite la infección sistémica de ~50% de las plantas inoculadas a los 1-2 meses post-inoculación. Viriones purificados de los pases 4 y 5 mantienen la misma infectividad en cítricos que el aislado parental (100%). La secuenciación parcial del pase 4 sólo mostró el cambio de un aminoácido (aa) en la proteína p23, que no se observó en el pase siguiente. La secuenciación completa del pase 5 ha revelado un cambio nucleotídico en la línea CTV-T36-GFP y 12 en la línea CTV-T36, que dan lugar a 1 y 6 cambios de aa, respectivamente, que afectan a posiciones sin relevancia funcional de la ORF1a. Aunque las tasas de infección en los sucesivos pases son similares, se ha observado un aumento de la acumulación viral (evaluada mediante RT-PCR cuantitativa) en el transcurso de los 10 primeros pases y un ligero adelanto en la aparición de los síntomas característicos de la infección sistémica. La posible adaptación de CTV a *N. benthamiana* se analizará en pases sucesivos determinando la secuencia consenso, la infectividad relativa en *N. benthamiana* y cítricos en comparación con el virus parental y las características biológicas en huéspedes indicadores.

PAN-59

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A *Tomato mosaic virus* EN TOMATE MEDIANTE ENSAYOS BIOLÓGICOS Y MOLECULARESElvira-Recuenco, M.¹, Herradón, E.²Laboratorio de Sanidad ¹y Laboratorio de Técnicas Biomoleculares².

Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero. Dirección Técnica de Evaluación de Variedades y Laboratorios, INIA. Ctra. La Coruña Km 7,5. 28040 Madrid

Los ensayos de resistencia a enfermedades utilizados en la identificación de variedades para el registro de variedades comerciales y protegidas se realizan siguiendo los Protocolos de la CPVO (Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales), los cuales describen como metodología los ensayos biológicos de patogenicidad. Sin embargo, la CPVO ha financiado recientemente un Proyecto en el que participaron la DTEVL y la Unidad de Genómica y Proteómica del INIA, junto con diferentes laboratorios de Francia y Holanda, para estudiar la posibilidad de reemplazarlos por ensayos moleculares.

Nuestros laboratorios están realizando los ensayos biológicos y moleculares para evaluar la resistencia a *Tomato Mosaic Virus* (ToMV), patotipo 0 en tomate. Para el ensayo biológico se sigue el Protocolo CPVO-TP/044/3. La inoculación se realiza en plántulas en estado de 1.^a-2.^a hoja, frotando las hojas con inóculo preparado por maceración de hojas infectadas de ToMV en un tampón fosfato sódico 50 mM pH 7.0 y carborundo. La temperatura se mantiene a 23-25 °C. La evaluación se realiza dos semanas después de la inoculación: las plantas susceptibles mostrarán mosaico y las plantas resistentes no mostrarán mosaico, mostrando necrosis en algunos casos.

Para el ensayo de marcadores moleculares, se optimizó el protocolo desarrollado dentro del proyecto «*Development and evaluation of molecular markers linked to disease resistance genes for tomato DUS testing (option 1.^a)*», para detectar los genes Tm2 y Tm2² que confieren resistencia a ToMV patotipos 0, 1 y 0, 1, 2, respectivamente. Dicho protocolo se basa en la utilización de 2 PCRs Tetra ARMS codominantes: con la primera se detecta la presencia del alelo tm2 o la de los alelos Tm2/Tm2² y con la segunda se detecta la presencia del alelo Tm2 o del alelo Tm2². En ambos casos, las concentraciones finales de los componentes de la mezcla son: 1.5 µl de MgCl₂ (25mM), 0.1 µl de dNTPs (10mM), buffer 1X, 0.2 µl de cada uno de los primers SNP específicos, así como 0.05 µl de los outer primers utilizados. La polimerasa utilizada es la GoldStar (Eurogentec) en concentración final de 0.04 U/ µl. Los parámetros de la PCR, en ambos casos, son 35 ciclos de 1min de desnaturalización a 94 °C, 1 min. de alineamiento a 55 °C y 2min de elongación a 72 °C. Todo ello con una desnaturalización previa de 5 min a 94° C y una elongación posterior de 10 min a 72 °C.

Los resultados obtenidos hasta la actualidad indican que la presencia/ausencia de Tm2 o Tm2² en el ensayo molecular es coincidente con la reacción de resistencia/susceptibilidad en el ensayo de patogenicidad a ToMV patotipo 0.

PAN-60

ANÁLISIS DE LA RECUPERACIÓN DE PLANTAS DE *Nicotiana benthamiana* INFECTADAS CON LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO

Tena, F., Serra-Yoldi, M.T., y García-Luque, I.

Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC). C/ Ramiro de Maeztu, 9. 28040 Madrid. E-mail: igarcia@cib.csic.es

Los tobamovirus, género al que pertenece el virus del moteado suave del pimiento (PMMoV), son virus de plantas de RNA de cadena sencilla de polaridad positiva. PMMoV posee un interés especial debido a que puede producir importantes pérdidas económicas en los cultivo de pimiento, siendo España uno de los principales productores de la Unión Europea.

Los tobamovirus aislados de los cultivos de pimiento han sido agrupados en cinco patotipos según su agresividad patogénica con respecto a los genes de resistencia del genero *Capsicum* L¹-L⁴. La resistencia conferida por el gen L³ es activa contra la mayoría de ellos, incluyendo la cepa española de PMMoV (PMMoV-S) que es la cepa tipo del patotipo P_{1,2}. Pero sin embargo, no es activa frente a los virus incluidos en el patotipo P_{1,2,3} y P_{1,2,3,4} siendo la cepa tipo del primero la cepa italiana de PMMoV (PMMoV-I). La cepa española, a pesar de ser menos agresiva con respecto a estos genes, es la que más prevalece en los cultivos siendo las causas hoy en día desconocidas.

Datos previos de nuestro laboratorio mostraron que las plantas de *N. benthamiana* inoculadas con la cepa italiana del virus del moteado suave del pimiento se recuperaban a los 28 dpi, recuperación que no se observaba en las plantas inoculadas con la cepa española.

Para dilucidar las razones de este comportamiento diferencial, hemos llevado a cabo estudios de análisis de acumulación viral, de pequeños RNAs virales y del patrón de expresión de diferentes genes de proteínas relacionados con la patogénesis. Asimismo, llevamos a cabo un estudio de los niveles hormonales en las plantas para establecer su correlación con el proceso de recuperación.

El conjunto de los resultados nos lleva a proponer que la planta modelo *N. benthamiana* es capaz de activar su mecanismo de defensa frente a PMMoV-I con más eficiencia que frente a PMMoV-S, y que éste puede ser una de las razones de la mayor prevalencia de la cepa española en los cultivos.

PAN-61

**REPRODUCCIÓN Y TRANSMISIÓN DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO
NECROTICO DEL HABA A PARTIR DE DNAs CLONADOS
DE UN AISLADO ESPAÑOL DEL FBNYV**

Del Cueto-Ginzo, A.¹, Timchenko, T.², Grigoras, I.², Gronenborn, B.², Romero, J.¹

¹ Departamento de Protección Vegetal, INIA. Carretera de La Coruña Km. 7,0
28040- Madrid. E-mail: cueto.ana-isabel@inia.es

² Institut des Sciences du Végétal, CNRS, Avenue de la Terrasse, Bat 23, 91198
Gif sur Yvette, France

Se ha descrito que el genoma del nanovirus del amarilleamiento necrótico del haba (*Faba bean necrotic yellows nanovirus*, FBNYV) consiste de múltiples componentes circulares de ssDNA, de 1Kb de tamaño y que cada uno codifica una sola proteína. Estos componentes se encuentran encapsidados individualmente en pequeñas partículas icosaédricas, son transmitidos sólo por pulgones y se encuentra infectando leguminosas en el Norte de África, el Oeste de Asia y Europa.

Usamos un clon completo del aislado español de FBNYV Mu29D para reproducir los síntomas típicos de la enfermedad en plantas de *Vicia faba*, el principal huésped de este virus en la naturaleza. Se inocularon plantas de *V. faba* con suspensiones de diferentes cultivos de *Agrobacterium tumefaciens* (cepa COR 308) portadores de cada uno de los 8 componentes DNAs del FBNYV, insertados en el vector T-DNA binario pBin 19 en forma de dos copias repetidas en tandem. A las 3-4 semanas post-inoculación con los 8 componentes genómicos se obtuvieron plantas con síntomas típicos de la enfermedad causada por FBNYV. Los resultados se comprobaron mediante PCR, confirmándose la presencia del DNA viral en las plantas sintomáticas. El virus producido mediante agroinoculación se pudo transmitir, por primera vez para un aislado de FBNYV, muy eficientemente mediante su vector natural *Aphis craccivora*. Estos resultados aportan nuevas evidencias de que el genoma del FBNYV está formado por 8 componentes DNAs, y que el virus clonado es una excelente herramienta para futuros estudios de este virus y su gama de huéspedes.

PAN-62

CALIDAD BIOLÓGICA Y SUPRESIVIDAD NATURAL A LA VERTICILOSIS DE SUELOS DE OLIVAR BAJO DISTINTOS SISTEMAS DE MANEJO

Montes-Borrego, M., Aranda, S., Palomares-Rius, J.E., Jiménez-Díaz, R.M., Navas-Cortés, J.A., Castillo, P., Landa, B.B.

Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC). Apdo. 4084. 14080 Córdoba.
E-mail: blanca.landa@ias.csic.es

El olivo es un cultivo fundamental de la cuenca mediterránea con $> 9,5 \times 10^6$ ha. España es el principal país productor con más de $2,4 \times 10^6$ ha, de las que el 75% están en Andalucía. En el olivar andaluz, los sistemas de cultivo incluyen sistemas agroforestales, plantaciones tradicionales y plantaciones intensivas. Además, en las dos últimas décadas se han producido un gran número de innovaciones tecnológicas en el sistema de producción que incluyen: plantaciones superintensivas, riego por goteo, sistemas alternativos de manejo del suelo, y uso de estrategias sostenibles de bajo impacto ambiental como la producción integrada y la ecológica. Paralelamente, se ha producido un incremento en la extensión y severidad de enfermedades causadas por patógenos de suelo, indicando que el estatus fitosanitario actual del olivar está en riesgo. El objetivo principal de este estudio es determinar el estatus actual fitosanitario y de fertilidad biológica de suelos de olivar en el sur de España, analizando el impacto que los diferentes sistemas de manejo pueden ejercer sobre diversos indicadores de calidad biológica del suelo. Para ello, 94 olivares comerciales representativos de zonas y tipos de cultivo en Andalucía se han caracterizado por: propiedades físico-químicas del suelo rizosférico, diversidad funcional mediante actividades enzimáticas y perfiles de asimilación de compuestos, respiración, densidad de población y diversidad genética de bacterias totales y *Pseudomonas* spp., así como de nematodos fitoparásitos y de vida libre, entre otros. El análisis discriminante canónico permitió identificar indicadores biológicos, fundamentalmente perfiles FT-RFLP de poblaciones bacterianas, incidencia y densidad de población de nematodos fitoparásitos (78 especies), actividades enzimáticas y perfiles fisiológicos (CLPP), asociados diferencialmente a: i) tipo de suelo, ii) sistema de manejo del cultivo (ecológico, convencional, superintensivo, acebuches), y iii) manejo del suelo (laboreo, cubierta, herbicidas, ganado, etc.). Asimismo, en determinados suelos se han constatado niveles elevados de supresividad ($>80\%$) a la incorporación y establecimiento de inóculo de *Verticillium dahliae* así como al desarrollo de verticilosis en ensayos *in planta*. Actualmente se están identificando los indicadores biológicos altamente correlacionados con altos niveles de supresividad a la enfermedad.

* Investigación subvencionada por AGL2008-00344/AGR.

PAN-63

**CONTROL DE LA NECROSIS FOLIAR DEL CAQUI,
CAUSADA POR *Mycosphaerella nawae***

Berbegal, M.¹, Armengol, J.², García-Jiménez, J.²

¹ Fundación Agroalimed-Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n 46022, Valencia. E-mail: *mobermar@etsia.upv.es*

² Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n 46022, Valencia

La superficie de cultivo del caqui en la Comunidad Valenciana ha aumentado un 90% en los últimos 6 años. Considerado como una alternativa rentable a los cítricos y frutales de hueso, el caqui no había presentado ninguna patología fúngica grave hasta el momento. Sin embargo, en agosto de 2008, se detectó una nueva enfermedad causada por el hongo *Mycosphaerella nawae* en parcelas de caqui situadas en la comarca de La Ribera Alta (Valencia) que provocó graves pérdidas de cosecha.

Se estudiaron 8 materias activas fungicidas (captan, clortalonil, mancozeb, metil tiofanato, oxiclورو de cobre, piraclostrobin, tebuconazol y tiram) evaluando su efecto a diferentes concentraciones (0,1, 1, 10, y 100 mg de materia activa L⁻¹) sobre el crecimiento micelial de *M. nawae*. Para comparar la efectividad de los fungicidas se calculó la concentración efectiva 50 (CE50). Los fungicidas que mostraron un mejor efecto en la reducción del crecimiento micelial fueron metil tiofanato, piraclostrobin y tebuconazol.

Paralelamente, se realizó un ensayo de control en campo con las mismas materias activas en dos parcelas severamente afectadas durante dos años consecutivos. Se estudió la eficacia de dos aplicaciones, a finales de abril y mayo, evaluando el porcentaje de hojas afectadas y la cosecha en los árboles tratados comparando con el testigo. En campo resultaron efectivos los tratamientos con captan, mancozeb y piraclostrobin, manteniendo un porcentaje hojas afectadas significativamente inferior al testigo. En los árboles tratados con los fungicidas que resultaron efectivos a nivel foliar se obtuvieron unos niveles normales de cosecha mientras que en el testigo y árboles tratados con los fungicidas no efectivos la producción resultó significativamente inferior o nula. Los resultados de los ensayos de control en campo confirman que se trata de una enfermedad con un periodo de incubación largo ya que las infecciones tendrían lugar en primavera observándose los síntomas a partir de mediados de agosto. Los tratamientos preventivos en primavera con fungicidas como captan, mancozeb o piraclostrobin resultan una estrategia eficaz para el control de la nueva enfermedad de la mancha foliar del caqui causada por *M. nawae*.

PAN-64

LA VIRULENCIA ES ESPECÍFICA DE HOSPEDADOR EN *Fusarium oxysporum* Y ESTÁ CORRELACIONADA CON LA EXPRESIÓN DEL GEN *FTF1*

de Vega-Bartol, J.J.¹, Martín-Domínguez, R.¹, Tello, V.¹, Ramos, B.², García-Sánchez, M.A.³, y Díaz-Mínguez, J.M.¹

¹ Centro Hispano Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Dpto. Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca, C/ Duero 12, Villamayor, 37185 Salamanca. ² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), UPM-INIA, Campus de Montegancedo, Pozuelo de Alarcón, 28223 Madrid. ³ Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra, Avda. Pío XII 55, 31008 Pamplona

En el presente trabajo se han caracterizado 25 aislados de *Fusarium oxysporum* aisladas de plantas de judión (*Phaseolus coccineous*) que mostraban la sintomatología típica de fusariosis vascular, y se han comparado con estirpes de *Fusarium oxysporum* aisladas de plantas de judía (*P. vulgaris*) cultivadas en la misma comarca (El Barco de Avila). Todas las nuevas estirpes muestran el idiomorfo MAT1-2, dos haplotipos previamente descritos como IGS-A e IGS-B2, y EKs muy semejantes. Sin embargo, pertenecen a cuatro grupos nuevos de compatibilidad vegetativa (VCGs 0169, 01610, 01611 y 01612) y se clasifican en tres grupos de virulencia conforme a los resultados de los ensayos de infección en judión. El grupo formado por las estirpes más virulentas se denominó supervirulentos, y los otros dos grupos como altamente y débilmente virulentos, en consonancia con los grupos de virulencia previamente descritos en estirpes de *F. oxysporum* aisladas de judía. Sin embargo, las nuevas estirpes se comportaron como altamente virulentas cuando se inocularon en plantas de judía, demostrando que la virulencia es específica de la interacción y no una característica inherente al patógeno. Asimismo, se analizó el número de copias y la expresión del factor de transcripción *ftf1*, que es específico de estirpes altamente virulentas de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Los análisis mediante RT-PCR cuantitativa de la expresión de *ftf1 in planta* evidencian una significativa correlación entre la acumulación de transcrito de *ftf1* y virulencia. Por el contrario, la relación entre el número de copias polimórficas de *ftf1* y la virulencia es menos clara, lo cual sugiere que alguna/s de las copias no son funcionales, y quizás, la implicación de otros factores genéticos en las diferencias de virulencia observadas durante la infección de ambos hospedadores.

* Investigación financiada por ITACyL-Junta de Castilla y León (proyecto SA-03-C2), Junta de Castilla y León (proyecto GR64) y MICINN (proyecto 2009-08954).

PAN-65

INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE ENFERMEDADES POSTCOSECHA DE CITRICOS BAJO DISTINTAS ESTRATEGIAS DE RIEGO DEFICITARIO

Frías, J.¹, Aguado, A.¹, Capote, N.¹, Caballero, A.², de los Santos, B.¹, Muriel, J.L.¹, Romero, F.¹

¹ IFAPA Centro Las Torres Tomejil. Alcalá del Río (Sevilla). E-mail: julio.frias@juntadeandalucia.es

² Rio Tinto Fruit S.A.

El objetivo de este trabajo es determinar la influencia del ahorro de agua y de la fertilización en la incidencia y severidad de enfermedades postcosecha en cítricos, principalmente las causadas por *Penicillium digitatum* y *P. italicum*, en dos sistemas distintos de producción de cítricos (producción integrada y producción ecológica). Para ello se aplicaron distintos tratamientos a árbol, durante todo el mes previo a la recolección; consistiendo en un ahorro de agua del 31%, un ahorro de agua del 31% con aporte de nutrientes y un control, sometido a las labores culturales habituales en la zona. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones en las tres estrategias anteriormente mencionadas. Se analizó la influencia de las distintas estrategias de ahorro de agua y aporte de abono sobre la incidencia y severidad de las enfermedades postcosecha en la fruta recogida y almacenada en cámara fría, observándose que los frutos bajo condiciones de riego deficitario mostraron una menor incidencia y severidad de enfermedades postcosecha causadas por los patógenos arriba citados. Los resultados permiten determinar la estrategia más adecuada de fertirrigación para obtener mayor calidad de la fruta en postcosecha.

PAN-66

CAPACIDAD DE SUPERVIVENCIA DE *Phaeomoniella chlamydospora* EN SUELO EN AUSENCIA DE HUESPED

Tello, M. L., González, V.

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Agroalimentario (IMIDRA-Comunidad de Madrid) Autovía A-2, Km. 38,2. Código Postal 28800, Alcalá de Henares, Madrid. E-mail: marisa.tello@madrid.org

Phaeomoniella chlamydospora, principal agente causal de la enfermedad de Petri es capaz de infectar barbados de vid a través de las raíces. Sin embargo, la posibilidad de que el suelo sea efectivamente un medio de dispersión del inóculo está aun por dilucidar.

Este trabajo se centra en explorar la capacidad de persistencia en suelos naturales, de texturas diversas y bajo nivel de materia orgánica, y en ausencia de planta huésped, de 5 aislados del hongo inoculados artificialmente; así como en estudiar la evolución de los inóculos a lo largo de 12 meses, sometidos a diversas condiciones de temperatura y humedad controladas en laboratorio. Para ello, cada suelo se dispuso en placas de plástico cerradas (15g/placa) y se inoculó con una suspensión de conidias (10^6 ó 10^2 con/mL) compuesta por una mezcla de 5 aislados de *P. chlamydospora*. Las placas se incubaron a 3 temperaturas (10, 25 ó 30 °C) y con 3 humedades (10, 25 y 100%). Mensualmente se extrajeron submuestras de suelo de todos los tratamientos, se diluyeron (1/100) y se sembraron e incubaron a 25 °C en medios semi-selectivos adecuados. Periódicamente se registró el número de unidades formadoras de colonias (UFC) emergentes identificadas. Además, a los 12 meses se evaluó la capacidad infectiva de estos suelos mediante el trasplante en ellos de plántulas de vid procedentes de semillero.

Los resultados demuestran que *P. chlamydospora* es capaz de sobrevivir y mantener su capacidad infectiva, al menos durante 12 meses, en suelos naturales de bajo nivel de MO, en ausencia de huésped. Se discute la influencia e interacción de los factores estudiados (humedad, temperatura, concentración inicial de inóculo y tipo de suelo), así como la evolución de los inóculos en suelo. Se concluye que, bajo ciertas condiciones, el suelo podría actuar como reservorio de este patógeno, antes de su penetración a través del sistema radicular y, por tanto, debería ser tenido en cuenta como otra posible vía de dispersión de las enfermedades en las que *P. chlamydospora* está implicado.

PAN-67

**LA RIZOSFERA DE ACEBUCHES UNA FUENTE INEXPLORADA
DE *Bacillus* spp. CON ENORME POTENCIAL ANTAGONISTA
FRENTE A *Verticillium dahliae***

Montes-Borrego, M.¹, Aranda, S.¹, Durán, F.J.¹, Mora, I.², Cabrefiga, J.², Montesinos, E.², Landa, B.B.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC). Apdo. 4084. 14080 Córdoba.
E-mail: blanca.landa@ias.csic.es

² Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, s/n, 17071 Girona

El acebuche (*Olea europaea* subsp. *sylvestris*), se considera el ancestro del olivo cultivado, uno de los cultivos agrícolas más antiguos que se conocen. En Andalucía, existen reductos naturales de acebuches constituidos por árboles procedentes de reproducción sexual y que pueden constituir una fuente inexplorada de variabilidad genética con características agronómicas y biotecnológicas de gran interés. Estos árboles pueden ser reservorios únicos de bacterias específicamente adaptadas a la rizosfera con potencial como antagonistas de *Verticillium dahliae*, el agente causal de la verticilosis del olivo, la enfermedad más importante para este cultivo a nivel mundial. El objetivo del presente trabajo ha sido aislar y caracterizar la diversidad genética y potencial antagonista de *Bacillus* spp. en la rizosfera y endosfera de acebuches en el sur de España mediante una aproximación polifásica. Para ello, se aislaron y seleccionaron 61 aislados de *Bacillus* spp. con actividad antagonista *in vitro* frente a *V. dahliae*, procedentes de siete reductos de acebuches en Cádiz y Córdoba, y su potencial biotecnológico y de biocontrol se determinó mediante el análisis de marcadores moleculares basados en genes implicados en la síntesis de seis tipos de péptidos antimicrobianos (PAMs) incluyendo *urfAA* (surfactina), *bacA* (bacilisina), *fenD* (fengicina), *bmyB* (bacilomicina), *spaS* (subtilina) e *ituC* (iturina) y presencia de diversas actividades antimicrobianas. La mayoría de los aislados de *Bacillus* spp. presentó actividad proteolítica (88,5%), lipolítica (83,6%), quitinolítica (68,9%) y producción de sideróforos (73,8%). Por otro lado, la mayor parte de los aislados de *Bacillus* spp. (72,1%) presentan 5 de los 6 genes relacionados con la síntesis de PAMs, y el 98,4% posee la capacidad para la síntesis de al menos 1 PAM, siendo *bacA* el más frecuente (72,1%), seguido de *urfAA* (16,4%). Los aislados de *Bacillus* spp. se han identificado a nivel de especie mediante secuenciación y análisis BLAST del gen 16S del ARN ribosómico, indicando que pertenecen a los grupos *B. subtilis*/*B. amyloliquefaciens* (68,9%) *B. cereus*/*B. thuringiensis*, (11,5%), *B. polymyxa* (11,5%), y *B. mojavensis*/*B. malacitensis* (1,6%). El gran arsenal de genes para la síntesis de varios PAMs y las diversas actividades antimicrobianas que poseen la mayoría de los aislados de *Bacillus* spp. hace que sean candidatos idóneos para ser caracterizados como agentes de biocontrol de la verticilosis y/o de otras enfermedades del olivo.

*Investigación subvencionada por AGL2008-00344/AGR.

PAN-68

SELECCIÓN DE POBLACIONES VIRULENTAS DE *Meloidogyne javanica* EN CAMPO TRAS EL CULTIVO REITERADO DE PATRONES DE TOMATE PORTADORES DEL GEN Mi.

Verdejo-Lucas, S.¹, Cortada, L.¹, Sorribas, F. J.², Ornat, C.²

¹ IRTA. Patología Vegetal. Crta. de Cabrils km 2, 08438 Cabrils, Barcelona;

² Dpto. d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia. Universitat Politècnica de Catalunya. Edifici ESAB, C/ Esteve Terradas, 8. 08860 Barcelona

La técnica del injerto en hortalizas está en expansión en Europa y ha sido adoptada sola o en combinación con otras medidas de control como alternativa no química a la fumigación del suelo. Los patrones de tomate con resistencia a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria* muestran una respuesta variable, desde altamente resistente a completamente susceptible. Para determinar la durabilidad de la resistencia en los patrones de tomate, se realizó un ensayo de campo en un invernadero multi-túnel infestado artificialmente con una población avirulenta de *M. javanica*. Los tomates se cultivaron en las mismas parcelas durante tres campañas agrícolas consecutivas. Los tratamientos fueron i) patrón experimental PG76 (*Solanum lycopersicum* × *Solanum sp.*), ii) patrón comercial Brigeor (*S. lycopersicum* × *S. habrochaites*), iii) cultivar resistente Monika (*S. lycopersicum*), y iv) cultivar susceptible Durinta (*S. lycopersicum*). El patrón PG76 respondió como altamente resistente (índice de reproducción (IR)= 7%) después del 1.º ciclo de cultivo, mostró resistencia intermedia (IR= 33%) después del segundo, y respondió como susceptible (IR= 94%) después del 3.º ciclo. Sin embargo, el patrón Brigeor (IR= 41%) y el cultivar Monika (IR= 25%), retuvieron niveles de resistencia intermedios después del 3.º ciclo de cultivo. Al finalizar los 3 años del estudio, el 50% de las plantas del patrón PG76, el 43% del patrón Brigeor, el 25% del cultivar resistente Monika, y el 100% del susceptible Durinta mostraron índices de agallas iguales o superiores a 5 (escala de 0 a 10). El cultivo reiterado de patrones resistentes de tomate en campo seleccionó una población virulenta de *M. javanica* a partir de una inicialmente avirulenta. La selección de poblaciones virulentas se confirmó mediante bioensayos y ésta producía más rápidamente en las parcelas plantadas con PG76 seguidas de aquellas con Brigeor y Monika. La población avirulenta que no estuvo expuesta al gen Mi permanecía avirulenta. La frecuencia del cultivo y el trasfondo genético del material vegetal fueron los factores determinantes en la selección de la virulencia.

PAN-69

**ALTERACIONES EN LA POBLACIÓN DE sRNAs PROVENIENTES
DE TEJIDO FOLIAR Y FLOEMÁTICO EN PLANTAS DE PEPINO
INFECTADAS CON EL VIROIDE DEL ENANISMO DEL LUPULO (HSVd)**

Martínez, G.¹, Donaire, L.², Llave, C.², Pallás, V.¹, Gómez, G.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad Politécnica de Valencia, CPI, Edificio 8 E, Av. de los Naranjos s/n, 46022 Valencia

² Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid

Los viroides son patógenos de plantas constituidos por un RNA circular de simple cadena con una alta estructura secundaria. Su genoma no posee capacidad codificante, por lo que dependen estrictamente de la maquinaria metabólica de su huésped para completar sus procesos biológicos. Sin embargo el o los mecanismo/s empleados por estos RNA patogénicos para subvertir los procesos celulares permanecen aún sin elucidar. En trabajos recientes se ha sugerido que en el proceso de patogénesis inducido por los viroides la expresión de síntomas en la planta infectada podría estar asociada con el mecanismo de silenciamiento de RNA y mediado por sRNAs derivados del viroide. En este sentido, recientemente hemos demostrado que en el caso del HSVd la expresión de síntomas está asociada con los niveles de actividad del silenciamiento de RNA en la planta infectada. Los sRNAs son las moléculas efectoras e indicadores fundamentales del silenciamiento de RNA. Por ello, la identificación y posterior análisis comparativo de las poblaciones de sRNAs en plantas sanas e infectadas puede contribuir a elucidar las alteraciones inducidas por los viroides durante el proceso de patogénesis. En este trabajo hemos utilizado la técnica de pirosecuenciación masiva (plataforma Roche 454) para caracterizar y analizar los sRNAs endógenos obtenidos a partir de hoja y de floema de plantas de pepino (*Cucumis sativus*) sanas e infectadas con el HSVd. Nuestros datos muestran por primera vez que la infección por viroides induce la acumulación de diversos micro RNAs (miRNAs) previamente descritos como reguladores de diversas etapas del desarrollo de la planta (miRNAs 159, 167, 171, 397, 398 y 408). Por otra parte, en plantas infectadas se observó una gran acumulación (hasta 20 veces más que en planta sana) de sRNAs derivados del extremo 3' de la forma madura del RNA ribosomal 25s. Finalmente, los resultados pusieron de manifiesto una acumulación diferencial de sRNAs de 22 nucleótidos en el floema de plantas infectadas, sugiriendo la existencia de un tráfico selectivo de sRNAs hacia el tejido vascular en las plantas infectadas.

PAN-70

IMPLICACIÓN DEL EXTREMO C-TERMINAL DE LA PROTEÍNA DE MOVIMIENTO DEL VIRUS DE LOS ANILLOS NECRÓTICOS DE LOS PRUNUS (PNRSV) EN EL TRANSPORTE A CORTA DISTANCIA Y EN LA INTERACCIÓN CON LA PROTEÍNA DE CUBIERTA

Aparicio, F., Pallás, V., Sánchez-Navarro, J.A.

Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV), Campus UPV, CPI 8E, Ingeniero Fausto Elio s/n, 46022 Valencia. E-mail: jesanche@ibmcp.upv.es

Una vez iniciada la infección, los virus de plantas necesitan invadir las células adyacentes (transporte a corta distancia), para alcanzar las partes distales del huésped a través del sistema vascular (transporte a larga distancia). El transporte de los virus de plantas es un proceso activo que requiere de una o varias proteínas codificadas en el genoma del virus conocidas como proteínas de movimiento (MP). En el presente trabajo hemos analizado el requerimiento de la MP del PNRSV (género Ilarvirus), en el transporte viral usando un sistema modelo heterólogo basado en el virus del mosaico de la Alfalfa (AMV).

El genoma de PNRSV está constituido por tres RNAs de polaridad positiva. Los RNAs monocistrónicos 1 y 2 codifican las proteínas P1 y P2 del complejo de la RNA polimerasa, respectivamente. El RNA 3 contiene dos pautas de lecturas abierta que codifican la proteína de movimiento (MP) y la proteína de cubierta (CP), la cual es expresada a través de un RNA subgenómico o RNA4. Resultados obtenidos mediante BiFC (Bimolecular fluorescence complementation) han puesto de manifiesto que los 38 residuos de amino ácido del extremo C-terminal (C-38) de la MP de PNRSV interactúan específicamente con su CP *in vivo*. El análisis mutacional de la MP reveló que C-38 es prescindible para el transporte a corta distancia mientras que la delección de los 4 residuos que preceden al extremo C-38 reveló que éstos son necesarios para la localización de la MP en el plasmodesmo y para la funcionalidad de la proteína.

**PANELES DE
SESIÓN SIMULTÁNEA I:
GENÓMICA**



PAN-71

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE ELEMENTOS TRANSPONIBLES EN *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* 1448A

Yanguas-Casás, N., Bardaji, L., Martínez-Bilbao, A., Jesús Murillo, J.

Laboratorio de Patología Vegetal, ETS de Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra. 31006 Pamplona. E-mail: jesus.murillo@unavarra.es

Los elementos transponibles juegan un papel crucial en la evolución de los genomas bacterianos debido a su capacidad para moverse y arrastrar con ellos secuencias de DNA adyacentes. Además, y entre otros efectos, su actividad puede conducir a la inactivación de genes por inserción, a la generación de duplicaciones y deleciones, a la activación de genes y a la modulación de la regulación génica. En particular, los elementos transponibles juegan un importante papel en la definición del espectro de huéspedes de la gamma proteobacteria *P. syringae*, favoreciendo la inactivación y movilidad de genes de virulencia –que normalmente se encuentran asociados a elementos móviles– o favoreciendo la creación de nuevos alelos. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* es el agente causal de la grasa de la judía y es un modelo de investigación en fitobacteriología. En este trabajo hemos abordado la identificación y caracterización funcional de elementos transponibles en esta bacteria y su papel en la evolución de genes de virulencia. En primer lugar, hemos realizado un análisis y reanotación del genoma de la cepa 1448A, que nos ha permitido identificar 18 tipos de secuencias de inserción, localizadas tanto en el cromosoma como en plásmidos, presentes en un número variable de copias completas o truncadas. Para identificar funcionalmente los elementos móviles, y determinar su frecuencia de transposición, hemos empleado el vector pGEN500, que porta el gen *sacB* cuya actividad es letal para la bacteria en presencia de sacarosa; la inserción de elementos móviles en *sacB* permite atrapar estos elementos mediante la selección de bacterias resistentes a sacarosa, en las que se dicho gen se habrá inactivado. Como ya se ha descrito previamente, la frecuencia de transposición varió en hasta un orden de magnitud en distintos clones –entre 10^{-5} y 10^{-6} – aunque se mantuvo para cada clon después de varias transferencias en medio de cultivo, lo que indica que las inserciones no se acumulan en el cultivo. No se apreciaron diferencias significativas en las frecuencias de transposición en medio rico y en medio mínimo, ni en bacterias inoculadas en plantas compatibles (*Phaseolus vulgaris* cv. Tendergreen) e incompatibles (*Nicotiana benthamiana*). La identificación de los elementos transponibles se llevó a cabo mediante hibridación de perfiles plasmídicos con sondas específicas de elementos móviles y secuenciación. El 5% de los clones resistentes a sacarosa (*sacR*) contenían mutaciones en el gen *sacB*, mientras que el resto correspondía a secuencias de inserción, de las que el 98% se correspondieron con cinco variantes de IS801: el elemento completo, *per se* (1512nt) o arrastrando una secuencia de DNA adyacente, o truncado (fragmentos de 679 nt, 360 nt o 229 nt). El 2% restante corresponde a un nuevo MITE (Miniature Inverted repeat Transposable Element), que hemos denominado MITE_{Psy1} (100 nt).

PAN-72

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO Y FUNCIONAL DE EFECTORES DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III EN *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335

Antúñez-Lamas, M.^{1,2}, Matas, I.M.¹, Castañeda-Ojeda, M.P.¹, Aragón, I.M.¹, López-Solanilla, E.², Murillo, J.³, Rodríguez-Palenzuela, P.², Ramos, C.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora', Universidad de Málaga-CSIC. Área de Genética, Universidad de Málaga. E-mail: crr@uma.es

² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón. E-mail: pablo.rpalenzuela@upm.es

³ Departamento de Producción Agraria, E.T.S. Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra. E-mail: jesus.murillo@unavarra.es

Pseudomonas savastanoi pv. *savastanoi* (Psv) es la bacteria causante de la tuberculosis del olivo. La reciente secuenciación del genoma de la cepa Psv NCPPB 3335 ha permitido el abordaje de estrategias de alto rendimiento para la identificación de genes que codifican efectores putativos del sistema de secreción tipo III (T3SS). En primer lugar, se llevó a cabo una búsqueda de secuencias relacionadas con efectores T3SS en el genoma de Psv utilizando tres aproximaciones bioinformáticas: i) homología de secuencia con efectores previamente descritos, ii) presencia de péptido señal de translocación y, iii) presencia de promotores inducibles por el regulador HrpL (caja *hrp*). Este análisis reveló la existencia de 30 genes candidatos, de entre los cuales, 19 mostraron una identidad elevada con efectores previamente descritos en otras bacterias fitopatógenas. Otros 11 genes, en los cuales se identificó tanto la caja *hrp* como la secuencia codificadora del péptido señal, no mostraron identidad con la secuencia de ningún gen con función conocida hasta la fecha. Con el fin de determinar si los genes identificados bioinformáticamente codifican proteínas translocadas a través del T3SS de Psv, se han llevado a cabo fusiones traduccionales de algunos de ellos al gen codificador de la adenilato ciclasa (*cyaA*), utilizando para ello la tecnología *Gateway*. Este ensayo, se basa en la cuantificación del AMPc producido como consecuencia de la actividad catalítica del dominio Cya, que es dependiente de calmodulina. Tras seleccionar transformantes de las fusiones construidas en la cepa silvestre Psv NCPPB 3335 y en un mutante nulo de secreción afectado en el gen *hrpA* (NCPPB 3335 Δ *hrpA*), los ensayos de translocación se están llevando a cabo en plantas de *Nicotiana benthamiana* var. Newdel, huésped en el cual Psv induce una reacción incompatible.

PAN-73

**IDENTIFICACIÓN DE GENES DEL AGENTE DE BIOCONTROL
Pseudomonas pseudoalcaligenes AVO110 IMPLICADOS
 EN LA INTERACCIÓN CON EXUDADOS DEL HONGO FITOPATÓGENO
*Rosellinia necatrix***

Crespo-Gómez J.I.^{1,2}, Pliego, C.¹, de Vicente, A.², Cazorla, F.M.², Ramos, C.¹

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC. Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n, 29071-Málaga. ¹ Área de Genética. E-mail: crr@uma.es ² Departamento de Microbiología. E-mail: cazorla@uma.es

Pseudomonas pseudoalcaligenes AVO110, agente de control biológico frente a la podredumbre blanca del aguacate causada por *Rosellinia necatrix*, coloniza profusamente tanto la raíz de aguacate como las hifas de este hongo fitopatógeno, así como utiliza eficientemente compuestos exudados por el mismo en medio mínimo BM (medio denominado BM-RE). Con el objetivo de identificar los genes de esta cepa bacteriana necesarios para su supervivencia y multiplicación en exudados de *R. necatrix*, en la actualidad estamos llevando a cabo una estrategia de genómica funcional denominada «Signature Tagged Mutagenesis» (STM). Para ello, se construyó una colección de 5.750 mutantes, cada uno de los cuales contiene un transposón mini-Tn5-STM portador de una «etiqueta» diferente (secuencia de 40pb generadas al azar e identificables mediante hibridación Southern). El análisis de los mismos se lleva a cabo en grupos de aproximadamente 45 mutantes diferentes. Hasta la fecha, se ha analizado la capacidad de 1.104 de estos mutantes de crecer y sobrevivir en BM-RE 48 horas después de la inoculación. De entre ellos, se han seleccionado 8 mutantes cuya capacidad de crecer y sobrevivir en este medio se encuentra atenuada con respecto a la cepa silvestre. La clonación del gen de resistencia a kanamicina contenido en el transposón, seguida de la secuenciación del fragmento de ADN colindante al mismo, ha revelado el gen afectado por la inserción del transposón en cada uno de estos mutantes, denominados GAM («Growth Attenuated Mutants»). Los mutantes GAM-1 y GAM-2 se encuentran afectados en genes implicados en el metabolismo central; GAM-3 en un gen relacionado con la regulación de procesos relacionados previamente con la capacidad de biocontrol de otras cepas bacterianas, tales como la formación de «biofilms» y la colonización de raíces; los genes afectados en GAM-4 y GAM-5 muestran una elevada identidad con los codificantes de una peptidasa y una enterotoxina, respectivamente; GAM-6 y GAM-7 están afectados en genes codificadores de proteínas y, por último, GAM-8 presenta una inserción en un gen implicado en la biosíntesis de un sistema de dos componentes relacionado con la asimilación de nitrógeno.

PAN-74

CARACTERIZACIÓN DE LAS BASES GENÉTICAS DE LA RESISTENCIA AL FALLADO DEL ARROZ EN VARIEDADES EUROPEAS DE ARROZ

Osca, J.M.¹, Catala, M.M.², Aguilar, M.³, Carreres, R.⁴, Tharreau, D.⁵, Torró, I.¹, Pla, E.², Bretó, M.P.⁴, Domingo, C.⁴, Marqués, L., Baixauli, C.

¹ Departamento de Producción Vegetal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022 Valencia. E-mail: josca@prv.upv.es

² IRTA. Estació Experimental de l'Ebre. Ctra. Balada, Km 1. 43870 Amposta. Tarragona. E-mail: mar.catala@irta.cat

³ IFAPA Centro Las Torres-Tomejil. Ctra. Sevilla - Cazalla Km 12,2. 41200 Alcalá del Río. Sevilla

⁴ Departamento del arroz. IVIA. Ronda País Valenciano 36, 46410 Sueca-Valencia. E-mail: carreres_ram@gva.es

⁵ CIRAD. Avenue Agropolis 34398 Montpellier Cedex 5 France. E-mail: tharreau@cirad.fr

El fallado o pirculariosis del arroz (*Pyricularia grisea* tel. *Magnapotha grisea*), es la enfermedad de origen fúngico más importante del arroz. La utilización de variedades resistentes es el método más efectivo para prevenirla y muy a tener en cuenta, ya que gran parte de los arrozales europeos están ubicados en zonas especialmente protegidas de gran valor ecológico, en donde no son deseables tratamientos químicos. Determinar la base genética y molecular de resistencia al fallado en variedades europeas es de interés para la de obtención de variedades con resistencia duradera a pirculariosis. El objeto del proyecto Genblast ha sido el identificar genes que puedan conferir resistencia duradera e iniciar, en condiciones de cultivo europeas, la obtención de nuevas variedades resistentes. Se han combinado diferentes métodos: evaluación de resistencia a pirculariosis en condiciones de campo y laboratorio, estudio de la expresión de los genes implicados en los mecanismos de defensa, caracterización de la variabilidad alélica y análisis de QTLs. Para la caracterización de la resistencia en campo se ha trabajado en tres zonas arroceras (Valencia, Tarragona y Sevilla) con las principales variedades comerciales cultivadas y con material vegetal con genes de resistencia conocidos. Se han caracterizado aislados del hongo a partir de material recogido en las tres zonas. Los resultados indican: a) la existencia de un nivel bastante alto de resistencia parcial frente a *Pyricularia* en muchas de las variedades comerciales; b) las poblaciones del hongo existentes en Andalucía parecen genéticamente diferentes de las poblaciones encontradas en las zonas de Valencia y Tarragona y c) Muchos de los aislados identificados pertenecen a grupos genéticos ya identificados en Europa, aunque se han identificado nuevos grupos genéticos.

PAN-75

**EFFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS Y SUS EXTRACTOS
SOBRE AISLADOS DE *Verticillium dahliae* Y *Phytophthora* spp.
PATÓGENOS DEL OLIVO**

Lozano, M.D.^{1,2}, Ortiz-Urquiza, A.², Roca, L.F.¹, Trapero, A.¹

¹ Laboratorio de Patología Agroforestal, Dpto. de Agronomía. ² Laboratorio de Entomología Agrícola, Dpto. de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales. Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071-Córdoba. E-mail: z82lotom@uco.es

Verticillium dahliae, *Phytophthora megasperma* y *P. inundata* son patógenos limitantes en la producción del olivo cuya importancia ha ido creciendo en los últimos años. Actualmente es de interés la búsqueda de alternativas de control eficientes y de bajo impacto ambiental. Teniendo en cuenta que los hongos *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria* spp. se plantean como un recurso para el control de la mosca del olivo (*Bactrocera oleae*) en estado de pupa en el suelo y que algunas investigaciones han citado la producción de sustancias bactericidas y fungicidas por hongos entomopatógenos, se abordó este estudio para conocer su efecto sobre los principales patógenos del olivo residentes en el suelo. Se han utilizado un aislado de *M. anisopliae* (EAMa 01/58-su.), cuatro aislados de *Beauveria* spp., un aislado de *Trichoderma atropoviride*, dos aislados de *V. dahliae* (V4; V117C), un aislado de *P. megasperma* (P047) y un aislado de *P. inundata* (P020). El efecto de los hongos seleccionados contra los hongos fitopatógenos se evaluó mediante cultivos duales en placas de Petri y mediante la aplicación de varias concentraciones de proteína de los extractos crudos obtenidos de los cultivos. Se determinó la inhibición del crecimiento micelial de los fitopatógenos y de la germinación de microesclerocios y conidios de *V. dahliae*, así como la reducción de inóculo en suelos infestados natural y artificialmente por los fitopatógenos. En placa dual *T. atropoviride*, mostró inhibición en el desarrollo de *Phytophthora* spp. y *V. dahliae* entre 64 y 79%, observándose sólo competencia por espacio. Mientras que con *M. anisopliae*, se observaron halos de inhibición, con porcentajes entre 42 y 62% sobre *Phytophthora* y entre 40 y 44% sobre *V. dahliae*. Los aislados de *Beauveria* spp. inhibieron el crecimiento de *Phytophthora* entre 44 y 61% y de *V. dahliae* entre 52 y 57%. Hubo diferencias significativas entre las concentraciones del extracto crudo evaluadas, observándose una inhibición en el crecimiento con 25 microgramos de proteína/ml del 85% sobre P020 y del 91% sobre V4. Con el extracto de *Beauveria bassiana* a 100 microgramos de proteína/ml se obtuvo una inhibición del crecimiento micelial del 100% tanto en *V. dahliae* como en *Phytophthora* spp. No se observó efecto de los extractos sobre la germinación de microesclerocios de *Verticillium*, pero sí sobre la germinación de conidios con una inhibición del 86%. La evolución de la reducción de inóculo en los suelos infestados está siendo evaluada.

PAN-76

EFFECTO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS SOBRE LA DENSIDAD DE INÓCULO DE *Phytophthora cinnamomi*

Vicente Domínguez, M.¹, Fernández-Rebollo, P.², Trapero, A.¹

¹ Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal)

² Dpto. Ingeniería Forestal. Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, 14071-Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

La dehesa, el sistema agroforestal más característico de la Península Ibérica cuya superficie supera los 2 millones de hectáreas, está siendo afectada severamente por la podredumbre radical de los *Quercus*, enfermedad causada por el oomiceto de suelo *Phytophthora cinnamomi*. El control de esta enfermedad es complejo y requiere la integración de todas las medidas disponibles. Entre las posibles medidas de control de esta enfermedad aplicables en la dehesa, destacan las prácticas culturales dirigidas hacia la reducción del inóculo del patógeno en el suelo. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de enmiendas de origen vegetal y animal aplicadas al suelo. Se han empleado estiércoles maduros de gallinaza, porcino (purín), ovino, vacuno y mezclas de éstos, así como otros productos de origen orgánico, como derivados lácticos de las queserías, alpeorujos y residuos de basura. Entre las plantas con posibles efectos biofumigantes, se seleccionaron especies que coexisten con los *Quercus* en la dehesa (*Cistus albus*, *C. ladanifer*, *Diplotaxis* sp., *Phlomis purpurea*). Tanto las plantas como los estiércoles fueron triturados para favorecer su aplicación y la liberación de compuestos volátiles. Los experimentos se han realizado con suelos de dehesa natural o artificialmente infestados por el patógeno. Los suelos tratados con las diferentes enmiendas se incubaron en recipientes herméticos en condiciones controladas y en macetas en invernadero sembradas con *Lupinus luteus*, especie susceptible a *P. cinnamomi*. Periódicamente se cuantificó la densidad de inóculo en todos los tratamientos mediante la extensión de muestras de suelo en placas de Petri con medio selectivo de *Phytophthora*. Se ha observado una disminución significativa de los propágulos del patógeno en casi todos los tratamientos incubados herméticamente; si bien, esta disminución fue más importante en los suelos tratados con *C. ladanifer*, *C. albidus*, ácido láctico, y estiércoles de vacuno y de ovino. En las macetas sembradas con *L. luteus* la disminución de los propágulos fue paulatina a lo largo del tiempo en ambos tipos de suelos, con independencia del tratamiento aplicado. Esto se pudo deber a la baja viabilidad del inóculo empleado y a las condiciones de temperatura a las que estuvo sometido el experimento. Los experimentos se están repitiendo con otro suelo naturalmente infestado para seleccionar las enmiendas más efectivas e identificar los microorganismos del suelo favorecidos por dichas enmiendas que puedan actuar como antagonistas del patógeno.

PAN-77

DIVERSIDAD GENÉTICA DE LA POBLACIÓN PATÓGENA DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* EN EL SUROESTE DE ESPAÑA

Castaño, R., Avilés, M.

Dpto. Ciencias Agroforestales, Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla. E-mail: aviles@us.es

La determinación de la diversidad genética y racial en las poblaciones de patógenos en una región determinada es relevante, ya que proporciona información básica con una alta trascendencia práctica. Así, esta información es valiosa para el desarrollo de programas de mejora vegetal que proporcione variedades resistentes a las distintas razas presentes.

Los objetivos de este trabajo fueron i) el estudio de la diversidad genética de una población de 122 aislados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Fod) obtenidos de claveles con síntomas de fusariosis en invernaderos de 56 pagos de la costa noroeste de Cádiz y ii) conocer su distribución racial. Se analizaron distintos caracteres genéticos para medir la diversidad genética dentro de la población patógena de Fod. La caracterización poblacional se llevó a cabo mediante test de patogenicidad, usando cultivares de clavel diferenciales a razas de Fod y a través de técnicas moleculares, como análisis PCR usando marcadores moleculares específicos de raza y estudios filogenéticos, usando la técnica de huella génica RAPD-PCR.

Uniendo estos datos, obtuvimos resultados de prevalencia racial (medida como la relación número de pagos donde se encuentra una raza/número total de pagos estudiados). Fod raza 2 se presenta como la más prevalente en la zona Noroeste de la costa de Cádiz, con un 60,7%. Los aislados raza 1-8 obtuvieron un porcentaje de prevalencia del 35,7%. Presumiblemente, y con los datos obtenidos del test de patogenicidad, Fod raza 1 podría presentar mayor importancia en la población estudiada frente a Fod raza 8. Los datos obtenidos usando la técnica RAPD-PCR mostraron una alta homogeneidad genética intra razas, diferenciando la raza 2 de la raza 1-8 con un 60% de similaridad. En cambio, nueve aislados de la colección fueron agrupados en un cluster distinto a Fod, presentando una prevalencia en la zona del 10,71%. Estos aislados fueron identificados como *F. proliferatum*, patógeno oportunista de clavel.

PAN-78

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE AISLADOS DE *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, CAUSANTE DE LA SIGATOKA NEGRA DEL BANANO, AL FUNGICIDA BENOMYL

Sandoval-Jiménez, D.E.¹, Guzmán-González, S.¹, Orozco-Santos, M.², Manzo-Sánchez, G.¹

¹ Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Autopista Colima-Manzanillo km 40, Tecomán, Colima, México. E-mail: gmanzo@ucol.mx

² INIFAP Campo Experimental de Tecomán, Autopista Colima-Manzanillo km 35. E-mail: orozco.santos@inifap.gob.mx

El hongo *Mycosphaerella fijiensis* es el agente causal de la Sigatoka negra de los bananos y plátanos (*Musa* spp.), está considerada la segunda enfermedad más importante y devastadora, ya que reduce la producción en un 50% y genera un costo elevado para su control. Hoy en día, existen regiones en donde se realizan hasta 50 aplicaciones anuales de fungicidas. El benomyl es uno de los fungicidas ampliamente usados para el control de Sigatoka negra. Sin embargo, existen reportes de la presencia de aislados de *M. fijiensis* resistentes a benomyl. Por lo tanto, recientemente fue desarrollada una metodología de PCR-RFLP capaz de identificar aislados resistentes y sensibles a benomyl. En este estudio se analizaron mediante PCR-RFLP 44 aislamientos de *M. fijiensis* de huertos con diferente manejo del cultivo (rústico, semi-intensivo e intensivo) de las regiones productoras del Pacífico Centro de México. El ADN genómico fue extraído y purificado, posteriormente de cada uno fue amplificada la región de la β -tubulina de 1159 pb y luego digerida con la enzima *Bsh1236I* (ROCHE). Finalmente, los productos digeridos fueron corridos en gel de agarosa al 3% y teñido con bromuro de etidio, para el caso de aislados resistentes el fragmento de 360 pb, es digerido en 125 y 235, mientras que en los aislados sensible no es digerido. Los resultados mostraron que 24 aislados fueron resistentes y 20 sensibles: esto está en relación en gran medida del tipo de manejo intensivo. Es muy importante evaluar continuamente la frecuencia de la presencia de aislados resistentes de *M. fijiensis*. Esto con el objetivo de mantener un control adecuado de la enfermedad y preservar el uso de los fungicidas para un período más largo de tiempo. La falta de este tipo de control lleva a un alto aumento de las poblaciones resistentes y por lo tanto impide el uso del fungicida como agente de control.

PAN-79

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Meloidogyne incognita*
MEDIANTE UN FORMULADO DE *Paecilomyces lilacinus* Y *Trichoderma harzianum*, EN PLANTAS DE *Capsicum annuum***

Requena, A.M.^{a1}, Gonzalez-Ramiro, L.¹, Eziyyani, M.², Egea-Gilabert, C.³, Requena, M.^aE.¹, Candela, M.^aE.¹

¹ Departamento de Biología Vegetal (Fisiología Vegetal), Facultad de Biología, Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. 30100 Espinardo (Murcia). E-mail: mcandela.um.es

² Université Hassan Premier Settat. Faculté Polydisciplinaire de Khouribga. Département de Biologie. B. P.: 145, El Hay El Jadid, OCP-Office Chérifien des Phosphates-El Byout. Khouribga, Marruecos

³ Departamento de Ciencia y Tecnología Agraria, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48; 30203. Cartagena (Murcia)

El nematodo *M. incognita* causa agallas en las plantas de pimiento y ante la carencia de un nematocida capaz de sanear suelos contaminados, ya que el pesticida Bromuro de metilo antes ampliamente usado por su eficacia, ahora ha sido prohibido, se plantea un estudio de la eficacia de un formulado microbiológico para luchar contra la enfermedad. El formulado se basa fundamentalmente en el hongo nematofago *Paecilomyces lilacinus* raza 251 (PL251) y el hongo micoparásito *Trichoderma harzianum* (TH), analizando la interacción de estos hongos, solos y en combinación sobre raíces de plántulas de pimiento a los 1, 7 y 14 días después de la aplicación del nematodo. *M. incognita*. Se ha estudiado la compatibilidad de los agentes de biocontrol, así como la capacidad de *T. harzianum* para colonizar las raíces de pimiento en ausencia o presencia de *P. lilacinus* comprobándose que éste hongo patógeno de los huevos de *M. incognita* no afecta adversamente la colonización de las raíces de pimiento por *T. harzianum*.

Los ensayos del formulado se han realizado en macetas determinándose en primer lugar parámetros de análisis como número de masas de huevos, huevos por planta, porcentaje de parasitismo y nematodos en el suelo.

Los resultados indican que el control biológico de *M. incognita* en pimiento se incrementa positivamente mediante la aplicación combinada de antagonistas con diferentes modos de acción pues la combinación de *T. harzianum* y *P. lilacinus* causó una reducción del 67% en la densidad de los nematodos, frente a las obtenidas en las aplicaciones individuales.

PAN-80

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE UN VECTOR VIRAL BASADO EN EL VIRUS DEL MANCHADO FOLIAR DE LOS CÍTRICOS

Agüero, J., Ruiz-Ruiz, S., Velázquez, K., Navarro, L., Moreno, P., Vives, M.C., Guerri, J.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada-Náquera Km 4.5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: jguerri@ivia.es

El genoma del virus del manchado foliar de los cítricos (*Citrus leaf blotch virus*, CLBV), género *Citivirus*, familia *Flexiviridae*, es un RNA monocatenario de 8747 nt y polaridad positiva, que codifica tres proteínas implicadas en la replicación (RP), movimiento (MP) y encapsidación (CP), respectivamente. La poliproteína relacionada con la replicación (RP) se traduce directamente desde el RNA genómico (gRNA) mientras que MP y CP se expresan mediante la formación de sendos RNAs subgenómicos 3' coterminales (sgRNAs). En trabajos previos se obtuvo un clon infeccioso de gRNA de CLBV (IC-CLBV) y se delimitó la secuencia mínima promotora del CP-sgRNA en su contexto natural, localizándose entre los nucleótidos -67 y +50 respecto al inicio de transcripción. Con el objetivo de obtener un vector viral para la expresión de secuencias foráneas mediante la formación de un nuevo sgRNA se introdujo un punto de corte único en IC-CLBV detrás del codón de parada del gen de la CP, en el que se clonó la secuencia mínima promotora seguida de la del gen *gfp*, que codifica la proteína verde fluorescente GFP. El virus modificado infectó sistémicamente plantas agroinoculadas de *N. benthamiana*, en las que se observó fluorescencia verde en distintos órganos y se detectó la formación del nuevo sgRNA, que se acumulaba en mucha mayor proporción que los sgRNAs naturales del virus. Al estimar la acumulación de gRNA mediante RT-PCR a tiempo real en las plantas infectadas con este vector se observó que ésta era alrededor de 10 veces inferior a la obtenida con IC-CLBV, probablemente debido a que la alta expresión del nuevo sgRNA compromete la expresión de los otros sgRNAs. Se sabe que la presencia de CP es necesaria para la acumulación del virus y que hay una correlación entre la cantidad de CP-sgRNA y la de gRNA. Para aumentar la acumulación viral se desarrolló un nuevo vector en el que se introdujo un punto de corte único delante del primer codón del gen de la CP y se clonó en éste el gen *gfp* seguido de la secuencia mínima promotora del CP-sgRNA. Por lo tanto, en esta construcción GFP se expresaría bajo el promotor original de la CP mientras que la CP lo haría desde el promotor mínimo duplicado. En las plantas agroinoculadas con esta construcción se observó que el nuevo CP-sgRNA se acumulaba en mayor proporción que los sgRNAs de GFP y MP, así como un aumento en la acumulación de gRNA respecto a la construcción anterior, si bien la fluorescencia verde observada en los diferentes tejidos de las plantas infectadas fue menor.

PAN-81

***Citrus leaf blotch virus*: CARACTERIZACIÓN DEL PROMOTOR
DEL RNA SUBGENÓMICO DEL GEN DE LA PROTEÍNA DE LA CÁPSIDA
EN SU CONTEXTO NATURAL**

Renovell, A., Gago, S., Ruiz-Ruiz, S., Velázquez, K., Navarro, L., Moreno, P., Guerri, J., Vives, M.C.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Crta. Moncada-Náquera km 4.5. 46113 Moncada, Valencia. E-mail: cvives@ivia.es

El genoma del virus del manchado foliar de los cítricos (*Citrus leaf blotch virus*, CLBV), género *Citivirus*, familia *Flexiviridae*, es un RNA monocatenario de polaridad positiva de 8747 nt, organizado en tres marcos de lectura abierta (ORFs). El ORF1 codifica una poliproteína de 227 kDa con los dominios de la replicasa y se transcribe directamente desde el RNA genómico (gRNA). Los ORFs 2 y 3 codifican las proteínas de movimiento (MP) y cápsida (CP), respectivamente, y se expresan a partir de sendos RNAs subgenómicos 3' coterminales (sgRNAs). En el laboratorio se dispone de un clon infeccioso del genoma completo de CLBV bajo el control del promotor 35S de virus del mosaico de la coliflor (IC-CLBV). Para delimitar la secuencia mínima promotora del CP-sgRNA de CLBV en su contexto natural se construyeron tres series de mutantes a partir del clon IC-CLBV mediante supresiones nucleotídicas progresivas por delante y por detrás del inicio de transcripción de dicho sgRNA. Estas construcciones se agroinocularon en hojas de *Nicotiana benthamiana* para estudiar la multiplicación del virus y su capacidad de producir los distintos sgRNAs. Los resultados obtenidos indican que la posible secuencia promotora del CP-sgRNA está comprendida entre los nucleótidos -67 y +50 respecto al inicio de transcripción, por lo que sería suficiente una región nucleotídica igual o inferior a 117 nt para controlar la producción de CP-sgRNA. Sorprendentemente, los mutantes en los que se suprimieron segmentos crecientes de la secuencia comprendida entre el inicio de traducción del gen de la cápsida y el inicio de transcripción del CP-sgRNA mostraron acumulación creciente de dicho sgRNA, sugiriendo que esta secuencia podría modular negativamente la transcripción del CP-sgRNA. Por otro lado, se efectuaron mutaciones individuales en el hexanucleótido 5'-terminal GAAAAG, conservado también en los extremos 5' del gRNA y el MP-sgRNA, para evaluar la importancia del mismo en la síntesis de CP-sgRNA. Las mutaciones del primer y segundo nucleótido indujeron una disminución drástica en la acumulación de CP-sgRNA, mientras que la supresión de una A o las mutaciones de la G (+6) no alteraron dicha acumulación. Esto sugiere que los dos nucleótidos iniciales juegan un papel importante en el reconocimiento por la polimerasa del virus, mientras que los siguientes no son esenciales para la transcripción de dicho sgRNA.

PAN-82

**SENSIBILIDAD DE ESPECIES E HÍBRIDOS DEL GÉNERO *Citrus*
Y OTROS AFINES AL VIRUS DE LA PSORIASIS DE LOS CÍTRICOS**

Velázquez, K., Alba, L., Zarza, O., Vives, M.C., Pina, J.A., Navarro, L., Moreno, P., Guerri, J.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada-Náquera Km 4.5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: jguerri@ivia.es

El virus de la psoriasis de los cítricos (*Citrus psorosis virus*, CPsV), miembro tipo del género *Ophiovirus*, familia *Ophioviridae*, causa importantes daños en plantaciones comerciales de cítricos de distintos países. Una de las formas de evitar los daños causados por los virus es el uso de cultivares resistentes o tolerantes al mismo. Hasta la fecha no se conoce la sensibilidad a CPsV de algunas especies e híbridos del género *Citrus* y otros afines. Con el objetivo de localizar fuentes de resistencia natural frente a CPsV se seleccionaron 61 especies (o cultivares) e híbridos del género *Citrus* y otros afines [*Citrus* (37), *Microcitrus* (5), *Fortunella* (6), *Eremocitrus* (1), *Pleiospermium* (1), *Atalantia* (1), *Severinia* (1), *Clausena* (1), *Poncirus* (1) e híbridos (7)], que se propagaron sobre limonero rugoso inoculado con el aislado de CPsV PB-143. En cada planta se evaluaron los síntomas (reacción de shock, moteado, flecos cloróticos y síntomas de psoriasis B) y la multiplicación del virus mediante ELISA. De las 61 accesiones ensayadas: i) 54 mostraron síntomas y dieron reacción positiva en ELISA, si bien la intensidad de síntomas no se correlacionó con la acumulación viral; ii) 2 (*M. inodora* y *F. hindsii*) permanecieron asintomáticas pero dieron valores ELISA altos, indicando que deben ser tolerantes a CPsV; iii) 5 (*C. depresa*, *C. reshni*, *C. excavata*, y los híbridos citrange Carrizo y citrumelo CPB 4475) mostraron síntomas en la primera brotación pero no se detectó el virus, lo que sugiere bajo nivel de acumulación o eliminación de CPsV tras la infección; y iv) 1 (*P. trifoliata*) no mostró síntomas ni niveles detectables de CPsV, por lo que podría ser resistente. Para confirmar algunos de estos resultados, en un primer experimento se inocularon plantas de semilla de *C. reshni* y de citrange Carrizo con los aislados P-121, PB-102 y PB-143 y se evaluó la manifestación de síntomas y la acumulación de CPsV mediante RT-PCR cuantitativa a tiempo real. En todas las plantas de *C. reshni* y citrange Carrizo inoculadas con P-121 se observaron síntomas y se detectó el virus. Lo mismo ocurrió en las plantas de citrange inoculadas con PB-102, pero sólo el 29% de las inoculadas con P-143 mostraron síntomas a pesar de detectarse el virus en todas ellas. Por otra parte, sólo en el 71% de las plantas de *C. reshni* inoculadas con PB-102 o PB-143 se observaron síntomas y se detectó el virus. En otro experimento se inocularon 15 plantas de semilla de *P. trifoliata* con el aislado PB-143 y sólo se detectó el virus en 4 de ellas. La acumulación viral en citrange, *C. reshni* y *P. trifoliata* fue significativamente inferior a la detectada en la especie *C. sinensis*, sensible a CPsV. Los resultados obtenidos sugieren que estas especies/híbridos poseen cierta resistencia natural a la acumulación o movimiento de CPsV en la planta y que ésta resistencia depende del aislado.

PAN-83

**SECUENCIA NUCLEOTIDICA DEL VIRUS DEL MOSAICO SUAVE
DE LA ORTIGA BLANCA**

Rangel, E., Ferriol, I., Rubio, L.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia

El género *Fabavirus* está compuesto por tres especies virales: el virus 1 del marchitamiento del haba (*Broad bean wilt virus 1*, BBWV-1), el virus 2 del marchitamiento del haba (BBWV-2) y el virus del mosaico suave de la ortiga blanca (*Lamium mild mosaic virus*, LMMV). En un principio, la separación en especies se basó en diferencias serológicas (cada especie corresponde a un serotipo distinto) y en diferencias biológicas (gama de huéspedes y transmisibilidad por distintas especies de áfidos). Hace unos años se descubrió un cuarto serotipo y se propuso como una nueva especie del género *Fabavirus* a la que se denominó virus del mosaico de la genciana (*Gentian mosaic virus*, GeMV). La determinación de secuencias nucleotídicas de diversos aislados virales confirmó que BBWV-1, BBWV-2 y GeMV son tres especies relacionadas, sin embargo actualmente no se dispone de ninguna secuencia de LMMV. En este trabajo se determinó la secuencia nucleotídica de un aislado de LMMV. El análisis filogenético confirmó LMMV como una especie distinta relacionada las otras tres especies del género *Fabavirus*. LMMV presentó una identidad aminoacídica cercana al 40% con BBWV-1, BBWV-2 y GeMV mientras que la identidad entre estos tres virus estaba entre el 50 y 60%. A partir de la secuencia de LMMV se han diseñado iniciadores para su detección por RT-PCR.

**PANELES DE
SESIÓN SIMULTÁNEA II:
EPIDEMIOLOGÍA**



PAN-84

**CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MOLECULAR,
MEDIANTE MACRORRESTRICCIÓN GENÓMICA CON PmeI Y SwaI,
DE AISLAMIENTOS DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*
OBTENIDOS DE MALAS HIERBAS ASOCIADAS AL CULTIVO DE JUDÍA**

Fernández, A. M.¹, Rodicio, M.R.², González, A. J.¹

¹ Laboratorio de Fitopatología. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anamaf@serida.org

² Departamento de Biología Funcional (Área de Microbiología), Universidad de Oviedo, c/ Julián Clavería 6, 33006, Oviedo, Asturias

Pseudomonas savastanoi pv. *phaseolicola*, causante de la enfermedad conocida como grasa de la judía, fue detectada en Asturias en 1996. Desde 2007 a 2009, se realizó una prospección en tres fincas de la zona occidental de Asturias afectadas por grasa, donde se tomaron muestras de judía sintomática y de 24 especies de malas hierbas asociadas al cultivo.

Se analizaron mediante métodos clásicos 79 muestras de malas hierbas, de las que se aislaron 110 bacterias fluorescentes, de las cuales, ocho presentaron las características correspondientes a *P. s.* pv. *phaseolicola*. Estos aislamientos pertenecían a muestras de *Chenopodium* sp., *Fumaria* sp., *Polygonum* sp., *Solanum nigrum* y *Sonchus oleraceus*. También se recuperaron 35 aislamientos de las 32 muestras de judías sintomáticas analizadas. Entre todos los aislamientos se diferenciaron dos biotipos según sus características fenotípicas. Ambos estaban presentes tanto en muestras de malas hierbas como en las de judía.

Se confirmó la patogenicidad en judía de los aislamientos de *P. s.* pv. *phaseolicola* procedentes de malas hierbas pulverizando una suspensión bacteriana de 10⁸ ufc/ml sobre plántulas de judía. También se comprobó, en estos aislamientos, la presencia del cluster de la faseolotoxina mediante amplificación por PCR de dos fragmentos de genes implicados en producción de la toxina y resistencia frente a la misma.

Por último, se tipificaron molecularmente los aislamientos, utilizando macro-restricción genómica con los enzimas *PmeI* y *SwaI*, seguida de electroforesis en campo pulsado. El principal aspecto a destacar sería la coincidencia en los perfiles de restricción de los aislamientos de malas hierbas y judía procedentes de la misma finca. Esto sugiere que las malas hierbas pueden actuar como reservorio del patógeno. Además, independientemente del biotipo, todos los perfiles obtenidos por macro-restricción se encuentran estrechamente relacionados con los de cepas aisladas anteriormente a partir de judía granja asturiana.

PAN-85

**PRESENCIA EPIFITA DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*
EN *Solanum nigrum* ASOCIADO AL CULTIVO
DE JUDÍA GRANJA ASTURIANA**

Fernández, A. M.¹; Rodicio, M.R.²; González, A. J.¹

¹ Laboratorio de Fitopatología, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anamaf@serida.org

² Dpto. de Biología Funcional (Área de Microbiología), Universidad de Oviedo, Julián Clavería 6, 33006 Oviedo. Asturias

La judía tipo granja asturiana (*Phaseolus vulgaris* L.) se ve afectada por la «grasa», causada por *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*. Su cultivo va asociado frecuentemente a la presencia de malas hierbas, sobre todo en los estadios finales, que también coinciden con la mayor incidencia de la enfermedad. Las recomendaciones a los agricultores afectados incluyen el cambio de semilla, que no siempre produce mejoras significativas en el estado sanitario del cultivo. Por esta razón nos planteamos estudiar posibles reservorios de la bacteria patógena, comenzando por las malas hierbas.

Se realizó un muestreo recogiendo malas hierbas y judía en parcelas afectadas por grasa. Las muestras se analizaron mediante dislaceración de tejidos, siembra y aislamiento. La identificación se realizó por técnicas clásicas: Gram, fluorescencia, test de oxidación/fermentación de la glucosa, LOPAT y pruebas de asimilación de compuestos como única fuente de carbono. De esta forma se obtuvieron aislamientos que correspondían a *P. s.* pv. *phaseolicola*, de judía y de varias muestras de *Solanum nigrum*.

Dos aislamientos procedentes de *S. nigrum* y otros dos de judía, se utilizaron en ensayos de patogenicidad. Suspensiones bacterianas de 10⁸ ufc/ml de cada bacteria se pulverizaron sobre lotes de diez plántulas, de *S. nigrum* y de *Ph. vulgaris*. Un lote de diez plántulas de cada especie se utilizó como control pulverizando agua destilada estéril. Las plántulas inoculadas se cubrieron con bolsas de plástico transparente durante 48 h y se mantuvieron en una cámara de incubación a 22° C con un 80% de humedad y un fotoperíodo 16/8. Sobre las plántulas de judía se desarrollaron síntomas de grasa al contrario que sobre las de *S. nigrum* y los controles.

A pesar de no ser patógena en *S. nigrum*, la presencia de *P. s.* pv. *phaseolicola* puede tener trascendencia epidemiológica porque podría jugar un papel dentro del ciclo biológico de la bacteria, en una fase de supervivencia epífita. *P. s.* pv. *phaseolicola* sólo ha sido descrita en leguminosas, pero es probable que se encuentre como epífita en otras plantas y eso debe ser tenido en cuenta en programas de control de la grasa.

PAN-86

**ESTRATEGIAS DE SUPERVIVENCIA DE *Ralstonia solanacearum*
FILOTIPO II FRENTE A FACTORES DE ESTRÉS ABIÓTICO
EN MICROCOSMOS DE AGUA MEDIOAMBIENTAL**

Álvarez, B.¹, López, M.M.¹; Biosca, E.G.²

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera de Moncada a Náquera km 4,5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: mlopez@ivia.es

² Departamento de Microbiología y Ecología. Universidad de Valencia. Av. Dr Moliner 50. 46100 Burjassot. Valencia. E-mail: elena.biosca@uv.es

Ralstonia solanacearum produce marchitez en más de 200 especies vegetales. En la Unión Europea se considera una bacteria de cuarentena, cuyo filotipo (ft) II se ha detectado afectando a solanáceas como patata y tomate, y también en cursos de agua que podrían ser responsables de su diseminación. En este último caso, la bacteria tendría que sobrevivir a factores de estrés abiótico prevalentes en dichos cursos, como oligotrofia y temperatura. Para evaluar esta posibilidad, se prepararon microcosmos de agua medioambiental y agua destilada estériles que se inocularon por separado con dos cepas europeas de *R. solanacearum* ft II y se incubaron a 4 °C, 14 °C y 24 °C durante 40 días, y hasta 4 años a 24 °C en agua medioambiental. Durante estos periodos se realizaron recuentos de células totales, viables y cultivables, observaciones de la morfología celular y ensayos del poder patógeno en planta de tomate. Durante los 40 días en agua, las poblaciones de *R. solanacearum* a 4°C entraron en estado viable no cultivable, que fue inducido por baja temperatura aunque dependiente del contenido en nutrientes del agua. En cambio, a 14°C y 24°C el mantenimiento de la cultivabilidad de las poblaciones indicó una respuesta de supervivencia a la escasez de nutrientes por oligotrofia que, aunque similar en términos poblacionales, mostró diferencias por temperatura en cuanto a cambios morfológicos. Ambas estrategias se pueden considerar como mecanismos de supervivencia frente a condiciones adversas del medio. La respuesta de supervivencia a la escasez de nutrientes se observó también en las poblaciones de *R. solanacearum* durante el primer año a 24 °C en agua medioambiental. A partir de entonces y hasta los 4 años, proporciones variables y crecientes de las poblaciones de células viables fueron perdiendo cultivabilidad, en este caso, por escasez prolongada de nutrientes. En este periodo, *R. solanacearum* mostró otras estrategias de supervivencia como filamentosidad y gemación, transformación progresiva de los bacilos típicos en formas cocoides de pequeño tamaño y formación de agregados celulares. Además, en todos los casos, *R. solanacearum* mantuvo la capacidad de inducir marchitez en planta de tomate por riego incluso tras 4 años, poniendo de manifiesto una larga supervivencia y gran resistencia a las condiciones adversas en agua medioambiental que podrían explicar, al menos en parte, la diseminación de este patógeno por los cursos de agua natural.

PAN-87

SUPERVIVENCIA DE *Erwinia amylovora* EN *Ceratitis capitata*, LA MOSCA MEDITERRÁNEA DE LA FRUTA

Ordax, M.¹, Piquer-Salcedo, J.E.¹, Sabater-Muñoz, B.¹, Biosca, E.G.², López, M.M.¹, Marco-Noales, E.¹

¹ Laboratorio de Bacteriología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113, Moncada, Valencia. E-mail: ordax@ivia.es; piquer_jed@gva.es; bsabater@ivia.es; mlopez@ivia.es; emarco@ivia.es

² Dpto. Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, 46100, Burjassot, Valencia. E-mail: elena.biosca@uv.es

Erwinia amylovora es la bacteria de cuarentena causante del fuego bacteriano, devastadora enfermedad responsable de graves daños en frutales de pepita como manzano, peral y níspero, así como en rosáceas ornamentales. La investigación sobre su transmisión por insectos vectores se ha centrado en la diseminación a partir de flores, por lo que los insectos polinizadores han sido los más estudiados. No obstante, cualquier insecto que visita material vegetal infectado por este patógeno podría diseminarlo, y de hecho, la presencia de insectos no polinizadores es también muy común en las plantaciones de frutales. Entre los más extendidos está la mosca mediterránea de la fruta (*Ceratitis capitata*), peligrosa plaga que ataca más de 250 frutales diferentes, encontrándose algunas especies susceptibles al fuego bacteriano entre las más afectadas. Si *C. capitata* pudiera actuar como vector de *E. amylovora*, la bacteria debería ser capaz de sobrevivir en la mosca. Con el fin de investigar esta posibilidad, se empleó un método de adquisición natural del patógeno por el insecto. Así, grupos de 50 moscas se pusieron en contacto durante 48h con manzanas inoculadas con 10^7 ufc de *E. amylovora*. Después, las manzanas se retiraron, y las moscas supuestamente contaminadas con la bacteria se mantuvieron en jaulas durante 7, 14, 21 y 28 días, alimentadas con sacarosa estéril (10%). Se observó que, tras estar *E. amylovora* en contacto con las moscas durante 7 y 14 días, la bacteria aún se aislaba en medio sólido CCT (10^4 - 10^6 ufc/mosca). Por contra, tras períodos más prolongados, la bacteria no se recuperaba en CCT (<1 ufc/ml extracto de mosca), indicando una posible pérdida de cultivabilidad y/o viabilidad de *E. amylovora* en el insecto. Sin embargo, la realización de ensayos de recuperación de la bacteria mediante pase por material vegetal susceptible mostró resultados positivos en estos períodos de exposición más largos. Así, los extractos de moscas contaminadas con la bacteria durante 21 y 28 días se inocularon en manzanas y peras inmaduras, así como en brotes de peral. En todos los casos aparecieron necrosis típicas tras 4-7 días, recuperándose de nuevo la bacteria en CCT. Por tanto, *E. amylovora* es capaz de persistir durante casi un mes en *C. capitata*, pero podría no ser detectada si las moscas se analizaran sólo mediante aislamiento en medio de cultivo. Los altos niveles de bacteria transportados por un solo individuo de *C. capitata* apuntan a esta mosca como un nuevo vector potencial de *E. amylovora*, no señalado hasta el momento.

PAN-88

SUPERVIVENCIA A LARGO PLAZO DE *Xanthomonas citri* subsp. *citri* SOMETIDA A ESTRÉS POR COBRE Y A BAJA CONCENTRACIÓN DE NUTRIENTES: INDUCCIÓN DEL ESTADO VIABLE NO CULTIVABLE Y RESUCITACIÓN

Golmohammadi, M.¹, Cubero, J.², López, M.M.¹, Llop, P.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, (Valencia)

² Instituto Nacional de Investigación y Tecnología, Agraria y Alimentaria (INIA), Ctra de La Coruña Km 7,5 (Madrid)

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xcc) es el agente causal de la cancrrosis de los cítricos, que afecta a muchas especies y variedades comerciales. Diversos estudios sobre supervivencia de bacterias en el medio ambiente demuestran que bacterias incapaces de crecer en medios sólidos de cultivo tras someterse a condiciones de estrés, pueden conservar su actividad metabólica, entrando en lo que se denomina estado viable no cultivable (VNC). Por ejemplo, los compuestos de cobre que se emplean en el control de enfermedades, se ha observado que inducen el estado VNC en distintas especies bacterianas. En este trabajo se demuestra que Xcc puede entrar en VNC en condiciones de baja concentración de nutrientes y en presencia de bajas concentraciones de cobre durante varios meses. Para determinar este estado, se evaluó la cultivabilidad de células mediante recuento en placa y la viabilidad mediante análisis de integridad de membrana y de actividad respiratoria. Además, se desarrolló un sistema de RT-PCR basado en secuencias de un fragmento del gen *gumD* como marcador de viabilidad. Se demostró en este trabajo no solo que Xcc entra en el estado VNC, sino también la reversibilidad del mismo mediante la adición de medio de cultivo o extracto de hoja de cítricos, que actúan como agentes quelantes del cobre y proporcionan nutrientes a las células. Las bacterias así recuperadas son capaces de producir síntomas en ensayos in vitro. Éste es el primer trabajo que demuestra la inducción del estado VNC y la resucitación en Xcc, debido a la escasez prolongada de nutrientes, y confirma también el efecto del cobre observado en anteriores trabajos en otros modelos bacterianos. Esta nueva información debe tenerse en cuenta en la prevención de la cancrrosis, para evitar la introducción de esta enfermedad en nuevas áreas y para establecer medidas de control más eficaces.

PAN-89

RECUPERACIÓN *IN VIVO* DE CÉLULAS VIABLES NO CULTIVABLES DE *Erwinia amylovora* EN PLÁNTULAS DE PERAL

Santander, R.D.¹, Català-Senent, J.¹, Marco-Noales, E.², Biosca, E.G.¹

¹ Departamento de Microbiología y Ecología. Universidad de Valencia. Av. Dr Moliner 50. 46100 Burjassot. Valencia. E-mail: elena.biosca@uv.es

² Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera de Moncada a Náquera km 4,5. 46113 Moncada. Valencia. E-mail: emarco@ivia.es

Erwinia amylovora es el agente etiológico del fuego bacteriano, una de las enfermedades más graves y de más difícil control que afecta a frutales de pepita como el peral y el manzano, ocasionando serias pérdidas económicas en todo el mundo. Se dispone de escasa información acerca de los mecanismos de supervivencia de esta bacteria fuera del hospedador, pero se ha demostrado que entra en el estado viable no cultivable (VNC) ante distintos tipos de estrés, tanto en el hospedador como fuera de él. En este estado fisiológico, las células bacterianas permanecen viables pero pierden la capacidad de crecer en los medios generales donde habitualmente lo hacen, no siendo detectables mediante los métodos de cultivo convencionales. En este trabajo, se ha evaluado la recuperación *in vivo* de células VNC de *E. amylovora* mediante pase por el hospedador, usando plántulas de peral, y se ha comparado con dos de las metodologías de recuperación habitualmente empleadas para este patógeno: inoculación en medio KB líquido y en frutos inmaduros. Las células VNC se obtuvieron por exposición de *E. amylovora* a distintas condiciones de estrés (oligotrofia en agua natural, privación de nutrientes en agua destilada o distintos tiempos de exposición a cloro) y los ensayos de recuperación se realizaron a 26 °C. En la mayoría de casos, la recuperación de la cultivabilidad de las células VNC en planta fue más efectiva que la obtenida mediante las otras dos metodologías. Así, en el caso de estrés por cloro (el más severo de los ensayados), tras tiempos de exposición de 5 a 30 minutos se pudieron recuperar células VNC en planta, en KB líquido y, sólo ocasionalmente, en frutos inmaduros. Sin embargo, cuando la exposición a cloro se prolongó durante tiempos más largos, tan sólo la inoculación en planta resultó positiva, realsiéndose el patógeno en la zona de inoculación tras el desarrollo de síntomas. Por tanto, se ha demostrado una mayor eficacia en los ensayos de recuperación de células VNC en plántulas de peral que en los realizados con órganos sueltos o con caldo de cultivo. Asimismo, los ensayos *in vivo* se aproximan más a las condiciones que podría encontrar el patógeno en la naturaleza. Finalmente, estos resultados apoyan la propuesta de que el estado VNC debe ser considerado como parte del ciclo de vida de *E. amylovora*, y debe tenerse en cuenta en los estudios epidemiológicos del fuego bacteriano, con el objetivo de optimizar el manejo y control de esta enfermedad.

PAN-90

**EXPRESIÓN DEL GEN *RpoS* EN *Erwinia amylovora*
EN CONDICIONES DE ESTRÉS POR COBRE**

Águila-Clares, B., López, M.M., Bertolini, E., Marco-Noales, E.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Apartado Oficial, 46113 Moncada (Valencia)

Erwinia amylovora es el agente causal del fuego bacteriano, grave enfermedad que afecta a frutales de interés comercial como manzano, peral y níspero, y a algunas plantas ornamentales. En estudios previos, hemos demostrado que el sulfato de cobre, utilizado para el control químico del fuego bacteriano, induce en *E. amylovora* el estado viable no cultivable (VNC). En este estado, la bacteria pierde la cultivabilidad en los medios sólidos habitualmente empleados en laboratorio, pero permanece viable según métodos de determinación de la actividad metabólica. Si las bacterias VNC tienen la capacidad de revertir al estado cultivable cuando desaparece el factor de estrés (como se ha demostrado en el caso de *E. amylovora*), recuperando, además, su patogenicidad, el estado VNC se debe considerar una parte de su ciclo vital y una estrategia de supervivencia. Se supone que la transición del estado cultivable al VNC está genéticamente programada; sin embargo, mientras que los cambios morfológicos y fisiológicos han sido muy estudiados, el conocimiento de los mecanismos moleculares subyacentes a la inducción del estado VNC es todavía muy limitado. Una aproximación al estudio de las bases moleculares de este estado puede ser el estudio de la expresión de genes de interés, como los relacionados con factores de estrés. Puesto que el gen *rpoS* se ha relacionado con muy diversos tipos de estrés ambiental, incluyendo algunos que inducen el estado VNC en otras especies bacterianas, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar la expresión de este gen en *E. amylovora* en condiciones de estrés por sulfato de cobre. Para ello, se han diseñado iniciadores y una sonda TaqMan del gen *rpoS* de este patógeno. Con ello se ha puesto a punto una RT-PCR cuantitativa a tiempo real, con el fin de medir variaciones de la expresión del gen entre el estado cultivable y el estado VNC inducido por cobre. Cepas de *E. amylovora* se han inoculado en medio mineral suplementado con distintas concentraciones de sulfato de cobre, que inducen la entrada en el estado VNC a diferentes tiempos. Mediante la utilización de la RT-PCR a tiempo real se determinará si la expresión del gen *rpoS* se ve alterada en células VNC y se cuantificará dicha expresión en comparación con condiciones de ausencia de cobre. Mediante esta técnica, por tanto, se podrá determinar el papel del gen *rpoS*, y el de otros genes de interés, en la supervivencia de *E. amylovora* en condiciones de estrés por cobre.

PAN-91

**IDENTIFICACIÓN DE VECTORES POTENCIALES
DEL FYTOPLASMA '*Candidatus Phytoplasma mali*',
EN DISTINTAS ÁREAS DE CULTIVO DE MANZANO**

Sabaté, J., Laviña, A., Batlle, A.

IRTA, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries, Ctra Cabrils Km 2, 08348 Cabrils, Barcelona. E-mail: amparo.laviña@irta.es

El fitoplasma de la proliferación del manzano o '*Candidatus Phytoplasma mali*', está presente en muchos de los países europeos donde se cultiva el manzano, Alemania, Francia, Suiza e Italia entre ellos. Los síntomas principales de la enfermedad son proliferaciones anormales o escobas de bruja, menor tamaño de frutos, estipulas grandes y cuando están muy afectados menor desarrollo vegetativo. En España ha sido identificado en cultivos comerciales de distintas variedades de manzano de Asturias y País Vasco y también en material vegetal en proceso de certificación.

En los últimos años se ha observado un incremento importante de la enfermedad en Europa, especialmente en Italia. Esta reactivación puede ser debida a la aparición de nuevos aislados o a la presencia de vectores más eficaces. Por esta razón, la identificación y el control de los vectores y un buen conocimiento de sus dinámicas de población, de la infectividad de los mismos y de las plantas huéspedes en una determinada región son de gran importancia.

En Europa se han citado dos especies de psilidos como vectores de este fitoplasma, *Cacopsylla picta* (sin. *C.costalis*) y *Cacopsylla melanoneura*. Sin embargo, su distribución, infectividad y capacidad de transmisión varían entre las diferentes áreas geográficas.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar las especies de insectos citadas como vectores del fitoplasma que se encuentran en las áreas de cultivo del manzano de nuestro país, tanto en las áreas donde esta presente la enfermedad como en las que no, con la finalidad de prever los riesgos de diseminación de la enfermedad en caso de introducirse en las áreas donde no esta actualmente presente. Así mismo, se han identificado otras especies de insectos potencialmente transmisoras de fitoplasmas. Los individuos de las distintas especies se han analizado mediante PCR para determinar el porcentaje de individuos portadores de fitoplasmas.

La captura de insectos se llevo a cabo mediante la colocación de trampas amarillas pegajosas en parcelas de manzano seleccionadas en distintas áreas de cultivo de Cataluña (Barcelona, Gerona y Lleida), Asturias y País Vasco. Las placas se reemplazaron cada 15 días y una vez en el laboratorio se separaron las especies de insectos pertenecientes a familias potencialmente transmisoras de fitoplasmas. Los insectos pertenecientes a estas familias una vez identificados, se analizaron en grupos de 1 a 5 mediante PCR con cebadores específicos para la identificación de fitoplasmas del grupo de la proliferación del manzano o 16Sr-X.

* Trabajo financiado por el proyecto INIA RTA 09-075.

PAN-92

**DINÁMICA A LARGO PLAZO DE ESPECIES DEL GÉNERO *Fusarium*
EN MUESTRAS DE TRIGO PROCEDENTES DEL EXPERIMENTO
BROADBALK (1844-2009) EN EL REINO UNIDO**

Fernández-Ortuño, D.¹, Shaw, M.W.², Fraaije, B.A.¹

¹ Fungicide Resistance Group, Centre for Sustainable Pest and Disease Management, Department of Plant Pathology and Microbiology, Rothamsted Research, Harpenden, Hertfordshire AL5 2JQ, United Kingdom

² School of Plant Sciences, University of Reading, Whiteknights, Reading, Berkshire RG6 6AS, United Kingdom

La fusariosis de la espiga (FE) en trigo es una de las enfermedades más devastadoras en los cultivos de trigo y cebada en varias partes del mundo. Esta enfermedad es causada por varias especies del género *Fusarium*, de las cuales, predominan en el Reino Unido: *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. langsethiae*, *F. poae*, *Microdochium nivale* (formalmente conocida como *F. nivale*) y más recientemente *F. graminearum*. El desarrollo de esta enfermedad depende fundamentalmente de las condiciones climáticas imperantes durante el momento de la floración del cultivo, tales como temperatura, lluvia y humedad relativa. Por otro lado, el incremento en la utilización de prácticas de laboreo conservacionista ha sido reportado como una de las principales causas de epidemias prolongadas de FE en países como Canadá y EEUU. Además, esta enfermedad es única en su habilidad de influenciar cada aspecto de la cadena agroindustrial, pudiendo causar pérdidas económicas severas como resultado de menores rendimientos de grano y disminución de la calidad física e industrial del mismo. Sin embargo, la característica más relevante de estas especies es la capacidad de producir micotoxinas, tales como deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV) o zearalenona (ZEA), que son nocivas para la salud humana y animal.

El Instituto de investigaciones agrarias Rothamsted Research (Reino Unido) cuenta con un archivo histórico de trigo en el que se han depositado muestras de grano y hojas de este cultivo desde 1844 hasta la actualidad, junto con una gran cantidad de datos agronómicos y meteorológicos recopilados a lo largo de estos 165 años. Este material, único en el mundo, nos ha ofrecido la extraordinaria oportunidad de poder estudiar a lo largo de este tiempo la dinámica de epidemias causadas por diferentes especies del género *Fusarium*, concretamente *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. poae* y *M. nivale*. Además, gracias al diseño de modelos predictivos, principalmente basados en la combinación de prácticas agrícolas, densidad de inóculo y condiciones meteorológicas a lo largo del tiempo, podremos averiguar si *Fusarium* spp. puede ser usado como organismo indicador del cambio climático, como previamente ha sido demostrado para otros patógenos de trigo como *Phaeosphaeria nodorum* y *Mycosphaerella graminicola*, introduciendo una nueva e innovadora línea de trabajo a caballo entre investigaciones agrícolas y climatológicas, que nos ayudará a llevar a cabo un diseño más racional en los programas de control de esta importantísima enfermedad a nivel mundial.

PAN-93

AEROBIOLOGÍA DE *Diplodia seriata*, AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD DEL BRAZO MUERTO DE LA VID, EN DOS VIÑEDOS DE CATALUNYA Y RIOJA ALAVESA

Luque, J.¹; Muruamendiaraz, A.²; Legorburu, F. J.²

¹ Dep. Patología Vegetal, IRTA, Centro de Cabrils. Ctra. de Cabrils km 2, 08348 Cabrils. E-mail: jordi.luque@irta.cat

² Dep. Producción y Protección Vegetal, NEIKER, Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46, 01080 Vitoria/Gasteiz. E-mail: amuruamendiaraz@neiker.net; jlegorburu@neiker.net

La transmisión aérea mediante esporas es una de las vías habituales de dispersión de las enfermedades de la madera en el viñedo. En distintos estudios aerobiológicos se ha constatado esta vía de dispersión para especies de los géneros *Botryosphaeria*, *Eutypa*, *Phaeoacremonium* y *Phaeomoniella*. El objetivo de este trabajo fue determinar los patrones de dispersión aérea de *Diplodia seriata* (teleomorfo: *Botryosphaeria obtusa*) en viñedos de características agroclimáticas distintas, situados en Catalunya y Rioja Alavesa. Para efectuar el seguimiento de los vuelos de conidios de *D. seriata* se emplearon portaobjetos untados con parafina, que se expusieron al ambiente de los viñedos con periodicidad semanal, y se observaron posteriormente al microscopio para anotar el conteo de los conidios. Los resultados obtenidos sugieren que el patrón de dispersión de *D. seriata* difiere entre las dos zonas vitícolas a lo largo del año. En Catalunya se observa un período importante de vuelo de conidios a lo largo de toda la primavera (de Marzo a Junio, entre las semanas 12 y 26), acompañado de registros esporádicos y poco importantes en el resto del año. En contraste, la dispersión principal de conidios en Rioja Alavesa se da en los meses de invierno, con máximos en febrero. Sin embargo, y como sucede también en Catalunya, se observan recuentos bajos de conidios, esporádicamente, en el resto del año. En general, los recuentos de conidios fueron mayores en Rioja Alavesa que en Catalunya, lo que podría estar relacionado, entre otros factores, con la posición de los captadores de esporas en los viñedos. En ambas localidades, los patrones de dispersión de los conidios se han estudiado mediante registros plurianuales (3 años en Catalunya y 2 en Rioja Alavesa), lo que confirma el comportamiento distinto de este patógeno en viñedos de características también distintas.

* Estudio financiado por el proyecto INIA RTA2007-00023-C04 y FEDER.

PAN-94

**LAS MALAS HIERBAS EN EL CULTIVO DE LA VID
COMO HOSPEDANTES ALTERNATIVOS DE HONGOS ASOCIADOS
A LAS ENFERMEDADES DE PETRI Y PIE NEGRO**

Agustí-Brisach, C., Gramaje, D., León, M., García-Jiménez, J., Armengol, J.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. *E-mail: caragbri@upvnet.upv.es*

Durante los años 2009-2010, se muestrearon malas hierbas en campos de plantas madre y de enraizamiento en viveros de vid, y viñedos comerciales localizados en las provincias de Albacete, Alicante, Castellón, Murcia y Valencia. Las malas hierbas se arrancaron cuidadosamente para no dañar el sistema radicular, se embolsaron individualmente y se llevaron al laboratorio para ser procesadas. Las plantas seleccionadas no mostraban síntomas en la parte aérea, aunque, en algunos casos, se observaron decoloraciones o zonas necróticas en las raíces. Para aislar *Cylindrocarpon* spp., el sistema radicular se lavó bajo agua corriente eliminando los restos de suelo y se desinfectó superficialmente durante 1 minuto en una solución de hipoclorito sódico al 1,5%, lavándose a continuación dos veces más con agua destilada estéril. Pequeños fragmentos procedentes de zonas necróticas de la raíz se sembraron en PDAS, incubándose 10-15 días a 25 °C en oscuridad. Las colonias emergentes se repicaron a PDA para su esporulación e identificación morfológica. La identificación de las especies de *Cylindrocarpon* se confirmó mediante PCR múltiple usando tres pares de cebadores específicos (Mac1/MaPa2, Lir1/Lir2 y Pau1/MaPa2). Los aislamientos de hongos asociados a la enfermedad de Petri se realizaron del mismo modo descrito anteriormente a partir de fragmentos de 10 cm de longitud procedentes de la zona basal de la planta. Pequeñas porciones de tejido xilemático interno se sembraron en MEAS. Las colonias se repicaron a PDA para su esporulación e identificación morfológica. La identificación de hongos asociados a la enfermedad de Petri se confirmó mediante el análisis de secuencias de DNA de los genes de la β -tubulina o ITS. *C. macrodidymum* fue la única especie de *Cylindrocarpon* aislada, siendo frecuente en raíces de malas hierbas pertenecientes a las siguientes familias: Amaranthaceae, Ambrosiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Geraniaceae, Leguminoseae, Malvaceae, Plantaginaceae, Poaceae, Portulacaceae y Solanaceae. *Phaeomoniella chlamydospora* se aisló del tejido xilemático de *Convolvulus arvensis* y *Cadophora luteo-olivacea* de *Bidens subalternans*, *Plantago coronopus* y *Sonchus oleraceus*. Posteriormente, se confirmó la patogenicidad a vid de una selección de estos aislados. Estos resultados demuestran el potencial de las malas hierbas como hospedantes alternativos de estos hongos, contribuyendo a su supervivencia en campo.

PAN-95

**ESPECIES DE CRUCÍFERAS Y LEGUMINOSAS DE INTERÉS
COMO CUBIERTA VEGETAL EN OLIVAR POR SU NIVEL
DE RESISTENCIA A LA VERTICILOSIS**

Bejarano Alcázar, J., Rodríguez Jurado, D.

IFAPA Centro «Alameda del Obispo». Apartado 3092. 14080 Córdoba. E-mail: jose.bejarano@juntadeandalucia.es

Entre las medidas de lucha preventivas contra la Verticilosis del olivo destaca evitar la presencia en las plantaciones de olivar de especies vegetales que dispersen e incrementen significativamente el inóculo de *Verticillium dahliae*. En investigaciones precedentes hemos caracterizado la reacción de diversas especies de gramíneas y de crucíferas utilizadas como cubiertas vegetales en el olivar a la infección por *V. dahliae*. La variada tipología de las explotaciones olivareras andaluzas y la necesidad de rotar las especies usadas como cobertura, implican la conveniencia de ampliar el número de genotipos vegetales resistentes a la Verticilosis disponibles actualmente. En este trabajo se presentan los resultados de la evaluación de la resistencia de tres especies de crucíferas no estudiadas anteriormente: *Brassica juncea* (línea Z-1), *Diplotaxis eruroides* y *Lepidium sativum*; y de las especies de leguminosas: *Vicia articulata* (algarroba), *V. ervilia* (yero, variedad Moro 131) y *V. sativa* (veza, variedad Vaguada), a aislados representativos de los patotipos severo defoliante (D) y moderado no defoliante (ND) de *V. dahliae*. Se realizaron dos experimentos (uno por Familia vegetal) de inoculación artificial en condiciones controladas por inmersión del sistema radicular de las plantas en una suspensión ajustada de conidias del aislado correspondiente. En cada experimento se incluyeron plantas de la variedad Acala SJ-2 de algodónero (*Gossypium hirsutum*) inoculadas con el patógeno como control de susceptibilidad (susceptible al patotipo ND y extremadamente susceptible al patotipo D), y plantas de cada especie tratadas con agua estéril como testigos. La resistencia de las especies evaluadas fue establecida en base al valor del Índice de Intensidad de Enfermedad estimado al final de los experimentos, ponderado con los valores de otras variables descriptivas del desarrollo de enfermedad.

Los aislados D y ND utilizados fueron patogénicos sobre todas las especies estudiadas. El aislado D fue significativamente más virulento que el ND en algarroba, algodónero y yero, pero ambos aislados fueron similarmente virulentos en *B. juncea*, *D. eruroides*, *L. sativum* y veza. *B. juncea* y *D. eruroides* fueron clasificadas como altamente resistentes y *L. sativum* como resistente a ambos aislados de *V. dahliae*. Las especies leguminosas algarroba, yero y veza fueron, respectivamente, susceptible, extremadamente susceptible y resistente al aislado D, y moderadamente susceptible, resistente y altamente resistente al aislado ND. Estos resultados desaconsejan la utilización de algarroba y la variedad Moro 131 de yero como cubiertas vegetales en olivares infestados por *V. dahliae*.

* Financiado por los proyectos RTA2005-00024-C03-01 y P07-RNM-03205.

PAN-96

**PROSPECCIÓN DE SUELOS Y AGUAS DE RIEGO DE GALICIA
Y DETECCIÓN DE *Phytophthora capsici* Y *P. nicotianae* POR PCR**

Veloso, J.¹, Carballeira, R.¹, Ares, A.¹, Rivera, A.², Taboada, A.², Pomar, F.¹, Ascasíbar, J.³, Díaz, J.¹

¹ Departamento de Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía, Universidade da Coruña, c/ Alejandro da Sota, 1, 15008 A Coruña E-mail: josefv@udc.es

² Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo, Xunta de Galicia, Carretera de Betanzos a Mesón do Vento Km 8. 15309 Abegondo (Mabegondo). A Coruña

³ Laboratorio Agrario e Fitopatolóxico de Galicia, Xunta de Galicia, Carretera de Betanzos a Mesón do Vento Km 8. 15309 Abegondo

Los cultivos hortícolas suponen actualmente cerca de un 25% de la producción agrícola en la Comunidad Autónoma de Galicia, y entre ellos el pimiento ocupa un lugar importante. Entre las enfermedades que causan pérdidas en el cultivo de pimiento se encuentra la «tristeza» causada por *Phytophthora capsici* y *P. nicotianae*. La detección de estos y otros patógenos en los suelos cultivados y aguas de riego puede permitir una planificación de las estrategias a seguir para combatirlos. En los últimos años se han desarrollado métodos para detectar la presencia de *P. capsici* y *P. nicotianae* por PCR. En el presente trabajo hemos realizado una prospección en un total de 38 explotaciones de pimiento en distintos lugares de Galicia (Padrón, O Rosal, Couto, Lugo, Ferrol, etc.) tomando muestras de suelo y agua de riego. Aplicando la metodología de PCR ya señalada se han analizado las mencionadas muestras, detectándose la presencia de los citados patógenos en algunas de ellas, sin que exista una correlación geográfica entre los positivos. La presencia de estos patógenos en Galicia aconseja la adopción de medidas preventivas y de control a corto y medio plazo, así como apoya la necesidad del proceso de mejora genética que paralelamente estamos llevando a cabo para obtener plantas resistentes.

Grote, D., Olmos, A., Kofoet, A., Tuset, J.J., Bertolini, E. & Cambra, M. 2002. Eur J. Plant Pathol. 108: 197-207.

Silvar C., Duncan, J.M., Cooke, D.E.L., Williams, N.A., Díaz, J. & Merino, F. 2005. Eur. J. Plant Pathol. 112: 43-52.

*El presente trabajo ha sido financiado por el INIA (RTA2007-00062-C02).

PAN-97

**MODELIZACIÓN DEL EFECTO DIFERENCIAL
DE LA TEMPERATURA DE SUELO Y PATOTIPOS
DE *Verticillium dahliae* EN CULTIVARES DE OLIVO**

Trapero-Casas, J.L., Lucena, C., y Navas-Cortés, J.A.

Instituto de Agricultura Sostenible, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Apdo. 4084, 14080 Córdoba. E-mail: jnavas@ias.csic.es

El impacto que el Cambio Climático puede ejercer en los patosistemas agrícolas hace necesario evaluar experimentalmente el efecto de parámetros climáticos y del patosistema en el desarrollo de las enfermedades. La Verticilosis del olivo, causada por el hongo de suelo *Verticillium dahliae* constituye el principal problema fitopatológico del cultivo en todas las zonas cultivadoras del mundo, y en particular en el Sur de España, por su rápida y extensa propagación, en gran parte del patotipo defoliante (D) altamente virulento. En este trabajo se ha evaluado y modelizado el efecto que la temperatura de suelo, el nivel de virulencia de patotipos de *V. dahliae* y la susceptibilidad del cultivares de olivo en el desarrollo de la Verticilosis.

Para ello se han realizado experimentos en condiciones controladas en los que se han dispuesto plantones de olivo de 9 meses de edad de los cultivares Arbequina y Picual, que crecieron en suelo infestado por los patotipos defoliante (D) y no defoliante (ND) de *V. dahliae* e incubados a temperatura de suelo constante de 16 a 32 °C con un intervalo de 4 °C. La enfermedad se evaluó por la severidad de síntomas foliares a intervalos de 2-3 días, así como diversos parámetros de crecimiento. Para cada combinación experimental, las curvas de progreso de enfermedad se ajustaron a un modelo no lineal flexible sigmoidal y la relación entre la severidad de enfermedad y la temperatura fue adecuadamente descrita por la función beta. Finalmente, para los dos patotipos y cultivares estudiados, se ajustaron superficies de respuesta en las que la severidad de enfermedad es función del tiempo y la temperatura de suelo.

Los resultados indican un efecto diferencial de los componentes del patosistema en el estudio, i.e., temperatura de suelo, patotipo de *V. dahliae* y cultivar de olivo en el desarrollo de Verticilosis. Así, el desarrollo de enfermedad fue más rápido y severo en la combinación mas favorable: 'Picual'/D seguida de 'Arbequina'/D, retrasándose en el tiempo y alcanzando valores de severidad muy inferiores en la combinación menos favorable 'Picual'/ND. La temperatura de suelo más favorable para el desarrollo de Verticilosis fue de 20-24 °C para 'Picual'/D y 20 °C para 'Arbequina'/D. La temperatura más desfavorable fue 32 °C. Nuestros resultados serán de utilidad para el desarrollo de modelos de predicción de riesgo de Verticilosis en condiciones de clima actual y futuras asociadas al cambio climático de las diferentes zonas de cultivo en el sur de España.

* Investigaciones financiadas por: P08-AGR-0385.

PAN-98

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y DEL TIEMPO
DE HUMECTACIÓN EN LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO CAUSADA
POR *Colletotrichum acutatum***

Jurado, J., Moral, J., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), ETSIAM, Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

La Antracnosis del olivo, causada por varias especies del género *Colletotrichum*, es la enfermedad más grave de la aceituna. Como sucede en otros cultivos típicamente mediterráneos, el conocimiento de la enfermedad y de su importancia es escaso e impreciso, hecho que se acentúa aún más en su aspecto epidemiológico. En este trabajo se estudia en el efecto de la humedad y temperatura en la infección y desarrollo del patógeno.

En un primer experimento se evaluó el crecimiento micelial en medio agar patata dextrosa (PDA) de 9 aislados de *C. acutatum* (especie dominante) de distintas procedencias. Las placas con el patógeno se incubaron de 5 a 35 °C a intervalos de 5 °C. A su vez, aceitunas de los cvs. Hojiblanca (susceptible) y Picual (resistente) se inocularon con dos aislados del patógeno y se incubaron en cámaras húmedas a las temperaturas anteriores. La severidad de síntomas se evaluó periódicamente utilizando una escala (0-5).

En un experimento similar, los frutos recién inoculados fueron incubados durante 48 h a 22±3 °C, para garantizar la infección, y nuevamente se incubaron 5 a 35 °C. Para estudiar el efecto del tiempo de humectación en la infección, estaquillas del cv. Arbequina (moderadamente susceptible) fueron inoculadas e incubadas en cámaras húmedas durante 1, 3, 6, 12, 24 y 48 h a 22±2 °C. Posteriormente, las estaquillas inoculadas se dejaron secar al aire durante 48 h. Las aceitunas se incubaron en cámara humedad evaluándose la infección del fruto durante dos semanas.

El patógeno creció en PDA entre 10 y 30 °C, con un óptimo en torno a 18-20 °C. Hubo diferencias significativas entre los aislados evaluados aunque éstas no fueron muy acusadas. El patógeno infectó las aceitunas entre 10 y 25 °C, siendo la temperatura óptima de infección 20±2 °C. Hubo diferencias significativas de virulencia entre aislados. El cv. Picual se mostró más resistente que 'Hojiblanca' a todas las temperaturas evaluadas. El porcentaje de aceitunas afectadas creció de forma lineal con el tiempo de humectación desde 1 a 24 h, en cambio no se observaron diferencias entre 24 y 48 h.

Los resultados de estos experimentos se han incorporado al modelo epidemiológico de la Antracnosis del olivo que está siendo desarrollado por nuestro grupo de investigación.

PAN-99

**INCIDENCIA DE LA MANCHA MARRÓN
DE LA MANDARINA FORTUNE EN MURCIA**

Guerrero, M.M.¹, Martínez, M.A.², Martínez, M.C.¹, Nemsá, I.³, Álvarez, N.¹, Porras, I.¹, Lacasa, A.¹

¹ Biotecnología y Protección de Cultivos y Citricultura, IMIDA, C/Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia). E-mail: alfredo.lacasa@carm.es

² Producción Vegetal, UPCT, Paseo Alfonso XIII 48, 30203 Cartagena (Murcia)

³ Facultad de Ciencias. Universidad de Túnez. El Manar

La mancha marrón de los frutos, producida por *Alternaria alternata* es el principal motivo de depreciación de la cosecha de la mandarina «Fortune» en el Campo de Cartagena (Murcia). La enfermedad se ve favorecida por períodos húmedos prolongados en épocas de temperaturas suaves y en las fases de desarrollo vegetativo de frutos y hojas. El control se basa en la aplicación de fungicidas y en prácticas culturales tendentes a la disminución de las contaminaciones. Durante varias campañas se ha evaluado la incidencia de la enfermedad en relación a las estimas de inóculo, al estado de desarrollo de los frutos y a las condiciones ambientales en la parcela, con el fin de ajustar el momento de las aplicaciones fitosanitarias. Los mayores niveles de inóculo capturados en la parcela coincidieron con temperaturas medias entre 20 y 25 °C y humedades relativas medias superiores al 80%. Poco después se presentaron los mayores niveles de incidencia de la enfermedad en hojas y en frutos en desarrollo. Los frutos totalmente desarrollados y en fase de maduración resultaron menos sensibles a la mancha parda que los que se encontraban en desarrollo. En las parcelas tratadas la incidencia en la cosecha fue menor (<10% de frutos afectados) que en las no tratadas (hasta el 50% de frutos afectados).

PAN-100

**GERMINACIÓN DE LOS CUERPOS HIFALES (ESPORANGIOS)
DE *Pythium spiculum*, PATÓGENO RADICAL DE LA ENCINA
Y EL ALCORNOQUE**

De Vita, P.¹, Serrano, M.S.¹, Callier, P.¹, García L.V.², Trapero, A.¹ y Sánchez, M.E.^{1*}

¹ Dep. Agronomía, Patología Agroforestal, Universidad de Córdoba, Apdo. 3048, 14080 Córdoba

² Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (CSIC), Apdo. 1052, 41080 Sevilla. *E-mail: ag1sahem@uco.es

Pythium spiculum, un nuevo patógeno de *Quercus* descrito recientemente, se aísla frecuentemente de raíces y rizosfera de encinas y alcornoques afectados de podredumbre radical en toda la mitad sur de España, asociado al decaimiento de los *Quercus*. En el último año este patógeno también se ha asociado al decaimiento de las manchas de alcornocal presentes en el Parque Nacional de Doñana.

El patógeno es capaz de infectar y causar la podredumbre de la raíz de *Quercus*, pero hasta el momento sólo se habían observado y descrito sus estructuras de reproducción sexual (gametangios y oosporas), junto con unos cuerpos hifales de morfología variada, en los que nunca se había detectado germinación. Quedaba por dilucidar si *P. spiculum* era capaz de producir estructuras de reproducción asexual (esporangios) y zoosporas capaces de producir infecciones secundarias en la raíz de sus huéspedes.

En este trabajo se demuestra que los cuerpos hifales de *P. spiculum*, independientemente de su forma y/o tamaño, son capaces de germinar directamente, produciendo largos tubos germinativos (hifas infectivas), a veces ramificados.

Aun cuando no se registró la producción de zoosporas, los cuerpos hifales de *P. spiculum* deben ser considerados como esporangios, siendo capaces de actuar como estructuras infectivas que multiplican la infección mediante ciclos secundarios de patogénesis.

PAN-101

SUSCEPTIBILIDAD DIFERENCIAL A *Phytophthora cinnamomi* DE PLANTAS PROCEDENTES DE DISTINTOS TIPOS DE ENCINAS

Serrano, M.S.¹, Fernández, F.², De Vita, P.¹, Callier, P.¹, Sánchez, M.E.¹, Trapero, A.¹, Fernández-Rebollo, P.²

¹ Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal) y ² Dpto. Ingeniería Forestal, Universidad de Córdoba. E-mail: ag1sahem@uco.es

El decaimiento sufrido por las especies de *Quercus* mediterráneas en el suroeste peninsular está originando una importante mortalidad de encinas y alcornoques en dehesas, debido fundamentalmente al patógeno de suelo *Phytophthora cinnamomi*, causante de podredumbre radical. La gran variabilidad genética inter e intrapoblacional de la encina permite evaluar la susceptibilidad diferencial de la encina frente a *P. cinnamomi* y el posible papel del uso de estas plantas en la repoblación de zonas desarboladas a causa de la podredumbre radical. Para ello se ha recogido bellota de cuatro tipos de encina (dos árboles madre por tipo), caracterizadas según la forma de la bellota y la cúpula (*microcarpa*, *expansa*, *macrocarpa* y *rotundifolia*) y un mesto (híbrido encina-quejigo -*Quercus faginea*-). Todos los árboles madre estaban situados en una dehesa llana con el mismo tipo de suelo y próximos (misma población). Con esta bellota se ha producido planta y cuando alcanzaron 1 año de edad, se inocularon artificialmente con *P. cinnamomi*. Las plantas inoculadas y las testigos se mantuvieron en invernadero con encharcamiento del sustrato 2 días por semana durante 3 meses.

Al término del ensayo todas las plantas presentaban síntomas de la enfermedad: amarillez, marchitez y en algunos casos defoliación de la parte aérea. En ningún caso hubo diferencias significativas entre madres dentro del mismo tipo de encinas. Los síntomas radicales consistieron en reducción del sistema radical y necrosis de las raicillas. Según los síntomas radicales podemos dividir a los árboles madre en tres grupos: moderadamente susceptibles (mesto), susceptibles (*expansa*) y muy susceptibles (*microcarpa*, *rotundifolia* y *macrocarpa*). La mayor tolerancia del mesto a la podredumbre radical causada por *P. cinnamomi* puede deberse a que el quejigo presenta mayor resistencia a la enfermedad que la encina.

Estos resultados abren nuevas posibilidades de utilización de plantas de encina menos susceptibles como fuente de semilla, o de hibridación con otras especies de *Quercus* poco o nada susceptibles a *P. cinnamomi*, para la repoblación de zonas con presencia de esta enfermedad.

PAN-102

SEGUIMIENTO DE *Botrytis cinerea* EN INVERNADEROS COMERCIALES DE TOMATE EN TENERIFE

Rodríguez Pérez, A.^{1,2}, De León Guerra, L.¹, Domínguez Correa, P.¹, Gallo Llobet, L.¹

¹ Dpto. Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Apdo. 60, 38200 La Laguna. Tenerife. E-mail: arguezp@icia.es

² Dpto. Microbiología y Biología Celular. Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna. 38207 La Laguna. Tenerife.

La podredumbre gris causada por *B. cinerea* es una enfermedad habitual en los cultivos de tomate del sur de Tenerife, principal área productora de la Isla. En las campañas 2007-08; 2008-09 y 2009-10 se ha realizado en dos invernaderos comerciales (1-Luc y 2-Alex) un seguimiento de la evolución de la enfermedad, así como el registro de parámetros ambientales (temperatura, humedad absoluta y relativa, punto de rocío y precipitación). En todas las campañas la severidad de la enfermedad en el invernadero 1-Luc fue superior a la observada en el invernadero 2-Alex, con porcentajes de plantas muertas superiores al 50% al finalizar el cultivo en 1-Luc, y entre 12-46% en 2-Alex. Así mismo, los primeros síntomas de *B. cinerea* se observaron en 1-Luc entre las semanas 11 y 14 de cultivo, mientras que en 2-Alex las primeras plantas sintomáticas se detectaron entre las semanas 16 y 18. Una vez iniciada la enfermedad, su evolución en el tiempo se ajustó en ambos invernaderos y en todas las campañas a una curva sigmoidea. Al transformar los datos de porcentaje de plantas con síntomas en tallo a unidades probit, se obtuvo una regresión lineal estadísticamente significativa frente al tiempo. En 1-Luc se registró un mayor número de horas con alta humedad relativa ($\geq 90\%$), este hecho concuerda con la mayor incidencia de *B. cinerea* en este invernadero respecto a 2-Alex.

PAN-103

**EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPORAS
DE *Uncinula necator* EN UN VIÑEDO COMO ESTRATEGIA
DE CONTROL DE PLAGAS**

Fernández-González, M.¹, Rodríguez-Rajo, F.J.¹, Aira, M.J.², Jato, V.¹

¹ Departamento de Biología Vegetal y Ciencias del Suelo. Facultad de Ciencias de Ourense. Universidad de Vigo

² Departamento de Botánica. Universidad de Santiago de Compostela

Una de las enfermedades criptogámicas más comunes del viñedo es el oídio, también conocido con los nombres comunes de ceniza, blanqueta, polvo, etc. El agente productor de la enfermedad es *Uncinula necator* (Schw.) Burr, que pertenece a la familia *Erysiphaceae*. La reproducción asexual por conidios da lugar a sucesivos ciclos de infección secundaria que contribuyen a la propagación de la enfermedad. El conocimiento de las concentraciones de estos propágulos fúngicos permite evaluar la intensidad de infección en el viñedo.

Se ha realizado un estudio aerobiológico y fenológico en un viñedo de la Denominación de Origen Ribeiro, localizado en el término municipal de Cenlle (Ourense-España) durante el ciclo vegetativo de la vid, entre los años 2004 a 2008. Para el estudio aerobiológico se ha utilizado un captador tipo Hirts modelo Lanzoni VPPS-2000 situado en el interior del viñedo, siguiendo el método propuesto por la Red Española de Aerobiología (R.E.A.). Las observaciones fenológicas se han realizado utilizando la escala fenológica estandarizada por la BBCH (Meier, 2001), seleccionando 20 cepas de cada una de las tres variedades a estudio: Treixadura, Godello y Loureira.

El año en que se han registrado un mayor número de esporas en la atmósfera del viñedo ha sido 2008 (4141 esporas), seguido de 2005, 2006, 2004 y por último 2007 (578 esporas). La concentración máxima diaria registrada fue 286 esporas/m³ en 2008. En general los períodos de mayor concentración coinciden con la fase final del estadio 5 (Aparición del órgano floral) y con los estadios 6 (Floración) y 7 (Formación del fruto). La humedad relativa alta y temperaturas entre 22 °C y 26 °C, favorecen la infección de este fitopatógeno.

Se ha elaborado un modelo para predecir la concentración de esporas de *Uncinula*. Para la elaboración del modelo se han tomado los datos de los años 2004 a 2008 utilizando variables meteorológicas y fitopatológicas. El modelo obtenido explica un 67% de la variabilidad de concentración de esporas de *Uncinula*, y ha sido testado con los datos de la campaña 2009, comprobando que la concentración estimada por el modelo y la concentración real se ajustan entre sí.

Los sistemas que permiten conocer el nivel de esporas de hongos en el aire, pueden suponer una gran ayuda para mejorar el control de esporas fúngicas en los cultivos y reducir el número de tratamientos fitosanitarios aplicados.

PAN-104

INTERACCIONES TRÓFICAS ENTRE *Ips sexdentatus* Y *Ophiostoma ips*

Lombardero, M.J.¹, Vázquez-Ruiz de Ocenda, R.A.²

Departamentos de Producción Vexetal¹ y Botánica² Escola Politécnica Superior. Universidade de Santiago de Compostela. Campus Universitario s/n 27002 Lugo. E-mail: rosana.vazquez@usc.es

Tradicionalmente se ha indicado que los hongos del azulado son mutualistas de los escolítidos a los que ayudan a vencer las defensas de la planta. Estudios previos realizados por nosotros indican que en algunas especies ocurre lo contrario y los hongos compiten con el insecto ejerciendo un papel negativo en sus poblaciones, con lo que esta interacción insecto-hongo podría variar de especie a especie.

El objetivo de este estudio es intentar conocer el papel que juegan los hongos del azulado transportados por los escolítidos, en la regulación de sus poblaciones. Presentamos aquí los resultados obtenidos para una de las especies más comunes de nuestros bosques, *Ips sexdentatus*, y la especie de hongo del azulado que aparece más frecuentemente asociada a este insecto, *Ophiostoma ips*.

Para ello se han utilizado individuos adultos de *Ips sexdentatus* que fueron capturados en campo, sexados y distribuidos al azar en tres tratamientos: individuos esterilizados, individuos a los que añade inóculo de *O. ips* e individuos control. Se utilizaron como control individuos procedentes del campo sin ninguna manipulación. Se hizo además un doble control en campo para eliminar los efectos manipulativos del experimento. Con este fin se muestrearon árboles atacados por escolítidos en 32 localidades diferentes de la comunidad gallega en las que se tomaban 2 muestras de 20 x 20 cm por árbol y en ellas se registraba el número de insectos presentes, el número y longitud de sus galerías y el área con presencia de azulado.

Los resultados muestran que *O. ips* parece actuar como mutualista de *I. sexdentatus*. La supervivencia y peso de los individuos emergidos es mayor en troncos con presencia del hongo que en trozas en las que se inocula al insecto previamente esterilizado. Además, los resultados de campo confirman los datos de laboratorio: se observa una relación positiva entre el porcentaje de azulado de las muestras y la supervivencia del insecto. Este incremento de las poblaciones del insecto, favorecido por la presencia del hongo, lleva consigo un inevitable aumento de la presencia de hongos del azulado en bosques y aserraderos, lo que repercute en un incremento de pérdidas económicas en el sector forestal debido a la devaluación que sufre la madera.

PAN-105

**HONGOS DEL AZULADO ASOCIADOS A *Tomicus piniperda*
EN GALICIA**

Vázquez-Ruiz de Ocenda, R.A.¹, Saa, A.² y Lombardero, M.J.²

Departamentos de Botánica¹ y Producción Vexetal ². Escola Politécnica Superior. Universidade de Santiago de Compostela. Campus Universitario s/n 27002 Lugo. E-mail: rosana.vazquez@usc.es

Tomicus piniperda L. (Coleoptera: Scolytidae) es un insecto de interés forestal debido a los daños que produce en las especies del género *Pinus*. Este insecto es responsable de la muerte de numerosos hectáreas de bosque cada año, pero también causa reducciones en el crecimiento cuando se desarrolla en el interior de los ramillos. En nuestra área de estudio quizá los daños más importantes de esta especie derivan de su capacidad de transmitir hongos del azulado que utilizan para vencer la resistencia de la planta. Los daños causados por hongos del azulado en Galicia son importantes debido a nuestras particulares condiciones ambientales de primaveras húmedas y frescas. A pesar de ello, existe un gran desconocimiento de estos hongos en nuestra comunidad. Por ello, nos propusimos estudiar los hongos del azulado asociados a *T. piniperda* en nuestra zona.

Un aspecto importante a tener en cuenta en el establecimiento de los hongos del azulado es la susceptibilidad de la planta huésped. Dicha susceptibilidad puede depender de la coevolución experimentada por ambas especies. Por esta razón decidimos estudiar los hongos del azulado que aparecen en las dos coníferas más ampliamente extendidas por nuestra comunidad: la especie nativa *P. pinaster* y la introducida *P. radiata*. Para ello muestreamos ejemplares de *T. piniperda* en ambas especies arbóreas en dos localidades situadas en las proximidades de Lugo (NW, España). Se procedió al muestreo de las parcelas quincenalmente, recogiendo insectos en todas las fases de su ciclo biológico, desde que se produce la colonización de los troncos, hasta su emergencia y posterior ascenso a los ramillos.

Los insectos se presionaron en condiciones estériles sobre placas con medio de cultivo. Se utilizó como medio básico MEA (Malt Extract Agar al 2%) suplementado con antibióticos (Streptomycin sulphate y Penicillin G) y se procedió a la identificación de los hongos mediante criterios morfológicos.

Los resultados preliminares indican una mayor frecuencia de hongos del azulado en muestras de la especie nativa *P. pinaster*. Entre los hongos aislados destacan por su frecuencia *Ophiostoma minus*, *Leptographium* sp., *Aureobasidium pullulans*, *Graphium* sp. y *Pesotum* sp.

PAN-106

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Monilinia fructigena*

Gell, I., Larena, I., Melgarejo, P., y De Cal, A.

Departamento Protección Vegetal. INIA. Carretera de La Coruña km 7. 28040 Madrid

Monilinia fructigena, conjuntamente con *M. laxa* y *M. fructicola* son los agentes causales de la podredumbre parda, una de las enfermedades más importantes que afectan a frutales de hueso y pepita. Hasta hace unos años *M. laxa* y *M. fructigena* eran dos especies mayoritarias en los huertos del Valle del Ebro. Sin embargo, desde que se detectó la presencia de *M. fructicola* en 2006, *M. fructigena* ha reducido su presencia sobre los melocotoneros.

Para conocer el riesgo real que puede suponer *M. fructigena* se ha realizado un estudio de la estructura genética de su población para conocer su potencial evolutivo y su implicación en el manejo de la enfermedad. Para ello se han utilizado secuencias de 3 genes altamente conservados: Factor de Elongación 1 α , Histidina quinasa y regiones ITS del rDNA. Los datos de secuencias de distintos genes conservados han sido usados para estudios filogenéticos y de diversidad genética así como para estimar frecuencias alélicas, nivel de heterogeneidad y estructura de las poblaciones en otros hongos patógenos y no patógenos.

Se seleccionaron 43 aislados de *M. fructigena* de huertos españoles, así como de otros países, se utilizaron como referencia externa otros aislados de *M. laxa* y *M. fructicola*. Estos aislados fueron identificados morfológica y molecularmente como *M. fructigena*. Se amplificó el rDNA de todos los aislados, mediante PCR utilizando cebadores ITS 4A e ITS 5, y se analizó la región que comprende las tres subunidades ribosomales y los fragmentos ITS; los fragmentos obtenidos fueron purificados y secuenciados con cebadores ITS4 e ITS1, luego se analizaron sus cromatogramas y se compararon con otras secuencias de *Monilinia* spp. en la base de datos del GenBank. Paralelamente se analizaron otros genes comunes en Eucariontes y descritos como altamente conservados, se incluyeron regiones del gen del Factor de Elongación 1- α (EF-1 α) y el gen Histidin Kinasa (HK). Mediante PCR se amplificaron los fragmentos EF-1 α y HK, se purificaron, clonaron en *E. coli* mediante pGEM y se secuenciaron. Se construyeron dendrogramas utilizando el software MEGA mediante el método Jukes Cantor.

Entre las secuencias analizadas de los genes amplificados, hubo una alta homogeneidad entre todos los aislados de *M. fructigena*. Del análisis de las regiones ITS1, rDNA e ITS2 se observó que *M. fructigena* se agrupa en una misma rama, formando un grupo mayoritario, en el cual no se puede discernir entre su origen geográfico ni su rango de huéspedes. El número de variaciones observadas en el análisis de nucleótidos de EF-1 α y HK no es suficiente para inferir agrupaciones legibles.

PAN-107

**COMPORTAMIENTO SANITARIO DE HONGOS PATÓGENOS
EN CEREALES DE INVIERNO Y PRIMAVERA DURANTE
LA CAMPAÑA 2008-2009**

Ortiz V.

Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV), Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero. INIA. Autopista km 7,5 28040 Madrid. E-mail: vilma@inia.es

Los hongos constituyen el mayor grupo de patógenos que infectan los cereales. Los métodos de lucha frente a estos patógenos incluyen además de el uso rutinario de fungicidas en variedades comerciales susceptibles, la utilización de nuevas variedades comerciales resistentes. En España, la OEVV es la encargada de evaluar el comportamiento agronómico, incluyendo el sanitario, de las nuevas variedades comerciales que solicitan su inscripción en el catálogo español de variedades. En los ensayos de la campaña 2008-2009 se evaluó el comportamiento sanitario frente al escaldado (*Rynchosporium secalis*), seca reticulada (*Pyrenophora (Drechslera) teres*) y oídium (*Erysiphe (Blumeria) graminis*), el complejo Septoria causado por *Septoria tritici*; *Mycosphaerella graminicola* y *Stagonospora nodorum*; *Phaeosphaeria nodorum*; roya de la hoja (*Puccinia recóndita*), roya amarilla (*Puccinia striiformis*) y manchas punteadas *Pyrenophora (Drechslera) tritici repenti*. Las evaluaciones de severidad, se realizaron mediante el porcentaje visual (0 a 100%) de la superficie foliar de la macolla infectada, durante la etapa de espigamiento (código 53, Escala Zadoks). Los resultados revelaron que en los ensayos realizados en 7 comunidades autónomas, en cebada de invierno, Cataluña y Navarra presentaron el valor más alto de severidad (VAS) de escaldado y seca. Este último también en Andalucía. En Castilla la Mancha no se observó seca, pero fue el único sitio donde se evaluó oídium. En cebada de primavera el País Vasco obtuvo el VAS para oídium y escaldado. Andalucía también presentó un VAS para el escaldado y Cataluña para oídium. En Navarra no se observó escaldado y La Rioja, Andalucía y Navarra fueron los sitios con un VAS para la seca. En los ensayos de trigo blando de invierno, el País Vasco obtuvo el VAS para el complejo septoria y fue el único sitio donde se evaluó oídium. La roya amarilla, roya de la hoja y manchas punteadas estuvieron ausentes en las 7 CCAA. En trigo blando de primavera, el País Vasco presentó el VAS para oídium y en algunas zonas de Andalucía se observó el VAS para roya amarilla y septoria. La presencia de manchas punteadas se dio únicamente en Andalucía y País Vasco. En los ensayos de trigo duro, la ocurrencia de oídium, roya amarilla, parda y mancha punteada se centró en algunas zonas de Andalucía. El complejo septoria está distribuido en Andalucía, pero con un VAS mayor en Palma del Río. Toda esta información formará parte de una base de datos que nos permitirá en el futuro definir las zonas calientes para determinados patógenos en los diferentes cultivos de cereales, así como también observar posibles variaciones de distribución y severidad.

PAN-108

**PRINCIPALES PROBLEMAS DE PODREDUMBRE DE RAÍZ
EN ECOSISTEMAS FORESTALES DE PAÍS VASCO**

Mesanza, N., Isasmendi, A., Saenz de Urturi, F., Iturritxa, E.

NEIKER-Tecnalia. Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46. CP01080 Vitoria. Álava

Las pérdidas en vigor e incrementos de mortalidad en los ecosistemas forestales pueden ser originadas por varios factores a escala espacial y temporal.

La podredumbre de raíz y cuello causada por *Armillaria* es una de las más importantes enfermedades que puede afectar a bosques nativos y plantaciones. En este trabajo se detecta la presencia y los daños asociados a otro género causante de podredumbres de raíz, *Heterobasidion*, en bosques del País Vasco.

El principal objetivo de este trabajo de investigación es identificar las causas y la severidad de la formación de claros de copa en ecosistemas de la Comunidad Autónoma Vasca.

Se realiza un estudio de la disminución del vigor y muerte de árboles y tocones, en 123 puntos en los que se observan claros de copa causados por los géneros *Heterobasidion* y *Armillaria* y otros agentes. Se han registrado daños asociados simultáneamente a la presencia de ambos patógenos y en algunos casos no asociados a ninguno de los géneros mencionados.

PAN-109

LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO EN EUCALIPTOS DEL PAÍS VASCO

Iturritxa, E., Mesanza, N., Quintana, E.

NEIKER-Tecnalia. Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46. CP01080 Vitoria. Álava.

Las primeras experiencias con especies exóticas, alternativas a *Pinus radiata*, donde se introdujo, entre otras especies forestales, el eucalipto se establecieron en 1957 en las localidades de Laukiz, Lezama y Alonsotegui. La expansión de plantaciones de rápido crecimiento como las plantaciones de eucalipto se produjo para abastecer las necesidades de la creciente industria de pulpa. Las plagas y enfermedades emergen como una de las principales amenazas de las plantaciones basadas en especies no nativas.

Por primera vez se comienzan a detectar el desarrollo de chancros de tamaños fuera de lo habitual, en tronco, en plantaciones jóvenes y adultas de eucalipto. Los daños a nivel del cambium en eucaliptos, a menudo resultan en la formación de venas de kino, un exudado rico en un amplio rango de compuestos polifenólicos con actividad fungiestática.

El estrés en las masas forestales puede deberse a la susceptibilidad intrínseca de la planta a la enfermedad, deficiencias nutricionales, estrés hídrico o al ataque previo de hongos defoliadores como las *Mycosphaerellas* que provocan una caída de hojas que desencadena una serie de deficiencias en la actividad fotosintética y las deficiencias nutricionales asociadas e incrementa la susceptibilidad de los árboles al ataque de hongos de chancro.

Resulta de especial trascendencia seleccionar especies, procedencias e incluso clones de eucaliptos que estén bien adaptados a las condiciones climáticas y a la ubicación de la plantación de manera que se pueda minimizar el estrés ambiental. Es posible realizar una selección de genotipos resistentes a la enfermedad de manera que se puedan establecer plantaciones con una base genética que reduzca su vulnerabilidad frente a los patógenos de este tipo.

PAN-110

DINÁMICA DE *Fusarium circinatum* EN PLANTACIONES DE NUEVO ESTABLECIMIENTO DE *Pinus radiata* DEL NORTE DE ESPAÑA

Quintana, E., Iturrutxa, E.

NEIKER-Tecnalia. Granja Modelo de Arkaute. Apartado 46. CP01080 Vitoria. Álava

Fusarium circinatum es un patógeno introducido en las plantaciones de *Pinus radiata* de Europa.

El País Vasco es uno de los principales productores de madera de pino radiata a nivel de España.

En este estudio se realiza un seguimiento del estado sanitario y desarrollo de plantaciones de pino, de nuevo establecimiento, en zonas demarcadas por causa de esta enfermedad y zonas no demarcadas en las que no se ha detectado la presencia de dicho patógeno.

Con este estudio se pretende conocer la dinámica del hongo una vez que las plantaciones infectadas fueran eliminadas, acorde a las normativas de erradicación establecidas.

Los resultados obtenidos hasta el momento desdramatizan la capacidad infectiva del hongo en la zona de estudio. Aunque es pronto para establecer conclusiones, las plantaciones de 2-6 años estudiadas, reflejan las consecuencias de la exposición a dichas condiciones de infección en el periodo de tiempo de entre 2 y 6 años.

PAN-111

EVALUACION DE LA EFICACIA DE UNA BATERÍA DE FORMULADOS BIOLÓGICOS FRENTE A LA MARCHITEZ VASCULAR DEL TOMATE

Vázquez, G., Larena, I., Melgarejo, P., De Cal, A.

Departamento de Protección Vegetal. INIA. Carretera de La Coruña km 7. 28040 Madrid

Penicillium oxalicum es un agente de biocontrol que induce resistencia frente a la fusariosis vascular y otros patógenos del tomate. El control de la fusariosis vascular ocurre en diferentes cultivares de tomate y dura hasta 60-80 días con eficacias variables que pueden alcanzar el 80% del control. Para mejorar la eficacia, y el manejo de las conidias secas de *P. oxalicum* se han diseñado formulados que mejoren la estabilidad y adherencia de las conidias secas y su solubilidad en agua.

Para ello se han aplicado aditivos en distintas etapas del proceso de producción y secado de las conidias (antes de la fermentación y antes del secado). Como estabilizantes se han añadido: 1% peptona o 20% glicerol; como adherentes: 1% Tween20, 1% leche desnatada o 1% metilcelulosa; y como mojantes: 1,5% alginato sódico, 20% glicerol, o 5% PEG8000. Se diseñaron formulados con todas las combinaciones posibles de los tres tipos de aditivos. Se comprobó la efectividad de 18 formulados de *P. oxalicum* (6×10^6 conidias/ml) frente a la marchitez vascular en ensayos de invernadero sobre turba estéril con una infestación artificial de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (10^5 propágulos/g suelo). Los tratamientos se aplicaron en bloques al azar, con 4 bloques por ensayo y 10 plantas por tratamiento y bloque. La incidencia de la enfermedad fue evaluada cada 15 días hasta 120 días después del trasplante. La población de *P. oxalicum* fue analizada en suelo y en la rizosfera en el momento del trasplante.

Las formulaciones de *P. oxalicum* que contienen 20% glicerol, aplicado antes y después de la fermentación, y 1% metilcelulosa o 1% leche desnatada, muestran un control de la marchitez del tomate superior al resto de las combinaciones. Estos formulados presentan a su vez una población de *P. oxalicum* en rizosfera mayor a lo largo del tiempo.

PAN-112

**IMPORTANCIA RELATIVA DE LAS FUENTES DE INÓCULO PRIMARIO
Y SECUNDARIO DE *Monilinia* spp. EN LA INCIDENCIA DE LA
ENFERMEDAD EN MELOCOTONEROS DEL VALLE DEL EBRO**

Villarino, M.¹, Melgarejo, P.¹, Usall, J.², Segarra, J.³, De Cal, A.¹

¹ Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña km 7, 28040 Madrid. ² IRTA. Postcosecha-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida. ³ Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal, Universidad de Lleida, Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida.

Hasta hace unos años *M. laxa* y *M. fructigena* han sido los hongos causantes de la podredumbre de los frutales de hueso y pepita en España. Desde el año 2006, una tercera especie, *M. fructicola* más virulenta se ha introducido en España. En estos momentos coexisten en el Valle del Ebro las tres especies simultáneamente, hecho que puede modificar las fuentes de inóculo primario y secundario y afectar a la epidemiología de la enfermedad.

Se estudió la evolución de la enfermedad en tres huertos comerciales del Valle del Ebro durante los años 2006, 2007 y 2008, donde se determinó a lo largo del desarrollo del cultivo: el inóculo invernante de *Monilinia* spp., las conidias aéreas en los huertos, las conidias en superficie de las flores y los frutos, las infecciones latentes, y la incidencia de la enfermedad en cosecha y postcosecha.

En nuestras condiciones *Monilinia* spp. inverna en forma de micelio sobre las momias y brotes necróticos infectados con el patógeno, no se han encontrado apotecios en ninguno de los huertos. Las momias que permanecen durante el invierno sobre los árboles son la principal fuente de inóculo primario para el inicio de las epidemias. Existe una correlación positiva entre el número de momias presentes en los árboles al inicio de la floración y la incidencia de la enfermedad en postcosecha. Las tres especies de *Monilinia* spp. han sido aisladas desde momias, aunque *M. laxa* sigue siendo la especie mayoritaria. Las fuentes de inóculo primario del suelo están correlacionadas con la cantidad de conidias aéreas presentes en los huertos de melocotonero durante el ciclo del cultivo. Existe también una correlación positiva entre los frutos abortados que han permanecido en el árbol durante el invierno y la cantidad de conidias del patógeno sobre la superficie de los frutos y la incidencia de las infecciones latentes del año siguiente. *M. laxa*, fue la especie causante de la mayoría de las infecciones latentes. La incidencia de la podredumbre en postcosecha se puede predecir con anterioridad a la cosecha según el tiempo que tarda en aparecer la primera infección latente (*Tlat*), la primera conidia en la superficie de fruto (*Tcosup*) y la primera conidia en el aire (*Tcoair*), variables que han explicado el 99% de la incidencia de la podredumbre en postcosecha durante los años 2006 a 2008 en los tres huertos estudiados.

PAN-113

EPIDEMIOLOGÍA DE *Fusarium circinatum* EN PLANTACIONES FORESTALES DE GIPUZKOA

Berra, D., Urkola, A.

Sanidad Forestal. Laboratorio Agrario de Fraisoro. 20159 Zizurkil. Gipuzkoa. E-mail: dberra@gipuzkoa.net

Fusarium circinatum está presente en las plantaciones forestales de Gipuzkoa. A raíz del Real Decreto 637/2006 en el que se establece el programa nacional de erradicación y control del hongo *Fusarium circinatum* se han realizado prospecciones anuales en las coníferas sensibles y se han demarcado las zonas afectadas por el hongo.

Hasta noviembre de 2009 se han declarado contaminadas 188 parcelas en Gipuzkoa, con un total de 382,25 Has; ello ha supuesto demarcar una superficie de 15.285 Has. En las zonas demarcadas existe un total de 4.087 Has de coníferas sensibles: *Pinus radiata*, 3.891 Has.; *P. pinaster*, 55 Has.; *P. nigra*, 71 Has. y *Pseudotsuga menziesii*, 70 Has.

La prospección ha ido encaminada a detectar síntomas típicos de parasitismo de *F. circinatum* en tronco y ramas: desecación de puntas, exudaciones de resina y chancros en madera (no se han realizado análisis de piñas). En todas las parcelas contaminadas la especie afectada ha sido *P. radiata*; en ningún caso se ha detectado infección del hongo en ninguna otra conífera sensible, incluso aunque estén en íntimo contacto con masas enfermas de *P. radiata*.

Los datos de las infecciones en monte contrastan con la epidemiología en plantas de vivero, donde la infección del hongo se propaga fácilmente entre las distintas especies de coníferas sensibles.

PAN-114

VIRULENCIA DE AISLADOS DE *Verticillium dahliae* ORIGINARIOS DE LAS AGUAS DE RIEGO DE OLIVAR EN ANDALUCÍA SOBRE OLIVO

Moraño Moreno, R., Bejarano Alcázar, J., Rodríguez Jurado, D.

IFAPA Centro «Alameda del Obispo», Apdo. 3092, 14080 Córdoba. E-mail: dolores.rodriguez.jurado@juntadeandalucia.es

La importancia epidemiológica de la presencia reiterada de esclerocios (Es) y micropropágulos (Mp) de *Verticillium dahliae* en aguas subterráneas y superficiales utilizadas para el riego de olivares en Andalucía depende en gran parte de la capacidad de estos propágulos para causar enfermedad en olivo. Por ello nos planteamos obtener una colección de aislados monoconídicos de *V. dahliae* de las aguas de riego de olivares en Córdoba, Jaén y Sevilla y determinar la virulencia de dichos aislados sobre olivo. Se seleccionaron 150 aislados monoconídicos de *V. dahliae* representativos de Es (60) y Mp (90) detectados en las aguas subterráneas (78) y superficiales (72) que abastecieron durante dos campañas de riego a un total de 37 campos de olivar en Córdoba (56), Jaén (46) y Sevilla (48). La virulencia de estos aislados se caracterizó mediante la inoculación artificial de plantas (12 por aislado testado) del cv. Picual de olivo, susceptible a la Verticilosis, en seis experimentos en condiciones controladas. Los experimentos incluyeron también plantas no inoculadas como testigos y plantas inoculadas con dos aislados de cada uno de los patotipos Defoliante (D) y No defoliante (ND) de *V. dahliae*, que sirvieron como Controles de Referencia (CR D y ND, respectivamente) de los dos grupos de virulencia sobre olivo reconocidos hasta la fecha. Se calculó un Índice de Virulencia como el porcentaje respecto a la virulencia máxima para los CR D, la cual consistió en la suma de variables significativas del desarrollo de enfermedad. El Índice de Virulencia de los aislados testados se comparó con el de los CR. Todos los aislados procedentes de las aguas de riego de olivar causaron enfermedad y se aislaron de las plantas inoculadas del cv. Picual. El 46, 74 y 65% de los aislados de Córdoba, Jaén y Sevilla pertenecieron al patotipo D y el resto al patotipo ND según que causaran defoliación intensa o no de las plantas, respectivamente. La mayoría de aislados D se originaron de Mp. Se identificaron seis grupos de virulencia entre los aislados caracterizados, tres de los cuales conformaron el patotipo D y los otros tres el ND. Los seis grupos se aislaron de las aguas de riego de los campos de Sevilla, y cinco (tres D y dos ND) y cuatro (dos D y dos ND) de dichos grupos se detectaron en las aguas utilizadas en Córdoba y Jaén, respectivamente. La mayor parte de los aislados de Córdoba y Sevilla estuvieron incluidos en número similar en los grupos de virulencia intermedios dentro de los patotipos D y ND, es decir, fueron tan virulentos como los CR D y ND, respectivamente, mientras que el 72% de los aislados de Jaén pertenecieron al grupo de los CR D. La diversidad de grupos de virulencia fue superior en las aguas subterráneas que en las superficiales y ambas albergaron al menos a uno de los tres grupos más virulentos sobre olivo. Además, hasta cuatro grupos de virulencia pudieron ser identificados en las aguas con las que se abasteció un sólo campo de olivar.

* Financiado por el proyecto RTA2006-00012-00-00.

PAN-115

**EFFECTO DE LA DOSIS Y FRECUENCIA DE RIEGO SOBRE
LOS NIVELES DE DISTINTOS PROPÁGULOS DE *Verticillium dahliae*
EN EL SUELO**

Moraño Moreno, R., Bejarano Alcázar, J., Rodríguez Jurado, D.

IFAPA Centro «Alameda del Obispo», Apdo. 3092, 14080 Córdoba. *dolores.rodriguez.jurado@juntadeandalucia.es*

La influencia del estado de humedad del suelo proporcionado por el riego sobre la supervivencia y multiplicación de *Verticillium dahliae* en el suelo podría ser, junto a la dispersión demostrada del patógeno en el agua de riego, una de las causas del incremento en la gravedad de la Verticilosis del olivo en Andalucía. Para esclarecer este aspecto, se ha estudiado el efecto de la dosis de agua y la frecuencia de riego sobre la densidad de esclerocios (DE) y la densidad de inóculo (DI; esclerocios, conidias y micelio) de *V. dahliae* en el suelo. Una mezcla de suelo artificial infestada con esclerocios (experimentos I-II) o conidias (experimentos III-IV) de dos aislados de los patotipos Defoliante (D) y No defoliante (ND) del patógeno, se dispuso en macetas y no se regó (sr) o se regó por goteo superficial con tres dosis constantes de agua [dosis alta (da) o capacidad de campo, media (dm) y baja (db)], correspondientes a potenciales matriciales diferenciados, durante 48-112 días a 24 °C. En un experimento adicional (V), la mezcla de suelo infestada con conidias del aislado D no se regó o se regó con dosis alta o baja aplicadas como antes o cada 7 ó 21 días. Se estimó periódicamente la DE (experimentos I, II y V; tamizado seco) y DI (experimentos II-V; dilución y siembra sobre medio de cultivo), expresadas como un porcentaje de la DE y DI al inicio de los experimentos, y se calculó el Área Bajo la Curva de Progreso de ambas variables (ABCPDE; ABCPDI) estandarizada. La dosis constante de riego influyó diferencialmente en la DE y DI, y su efecto varió en magnitud pero no en tendencia con el experimento y, aunque no siempre, con el patotipo (frecuentemente mayor para el ND) de *V. dahliae*. En los suelos infestados con esclerocios, los valores del ABCPDE fueron significativamente mayores en los tratamientos sr y de riego con da, que no difirieron entre sí, seguidos de los suelos regados con dm y db por este orden, indicando una supervivencia más alta de los esclerocios del patógeno en los dos primeros, pero no hubo diferencias entre tratamientos para el ABCPDI, sugiriendo una mayor formación de estructuras fúngicas distintas de esclerocios al aplicar las db y dm. Esta suposición fue refrendada en los suelos infestados con conidias, en los que el ABCPDI fue significativamente más bajo en los suelos sr y más alto en los regados con db, debido a que la multiplicación temporal del inóculo en respuesta al riego tendió a ser mayor al disminuir la dosis constante de agua. Estos resultados no variaron con la frecuencia de riego excepto porque la DE al final del experimento fue significativamente mayor en los suelos regados cada 21 días a dosis baja que en el resto de tratamientos. Por lo tanto, la reducción de la dosis de agua aplicada al suelo puede incrementar la presencia temporal de propágulos de *V. dahliae* distintos de esclerocios con potencial para causar infecciones en el huésped, y cuya probabilidad para formar esclerocios aumenta al disminuir la frecuencia de riego.

* Financiado por el proyecto RTA2006-00012-00-00.

PAN-116

**INCIDENCIA Y EPIDEMIOLOGÍA DEL CHANCRO DEL CASTAÑO
EN EL PRINCIPADO DE ASTURIAS**

González-Varela, G., González, A. J.

Laboratorio de Fitopatología. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anagf@serida.org

Cryphonectria parasítica, agente causal del chancro del castaño, se detectó por primera vez en España a mediados del siglo XX. Actualmente se encuentra presente en 69 de los 78 concejos que forman el Principado de Asturias, lo que supone la práctica totalidad de las 60.000 ha de castaño que hay en la Comunidad Autónoma. La presencia de un hipovirus infectando al hongo hace que se reduzca su virulencia y mejore el estado de los bosques. Este hipovirus se dispersa mejor cuando hay un bajo número de grupos de compatibilidad vegetativa (GCV), lo que abre una expectativa de lucha contra la enfermedad. En el Principado de Asturias se han encontrado tres GCV, EU-I, XIII y III que agruparon al 94,6; 5 y 0,3% de los 778 aislamientos que forman la colección de trabajo. El número de GCV se puede incrementar mediante reproducción sexual, que además limita la dispersión del hipovirus, por lo que se amplificó, mediante PCR, el gen MAT en una subcolección de 301 aislamientos, de los cuales el 72,4% amplificaron MAT-1 y el 26,9% MAT-2. El 0,6% fueron heterocariontes. Los dos idiomorfos se encontraron en masas forestales de 42 de los 69 concejos en los que se detectó la enfermedad.

Para la selección de posibles cepas hipovirulentas del hongo se caracterizó la colección de trabajo tanto morfológica como patogénicamente, para lo que se realizó un ensayo de virulencia sobre madera-corteza de castaño y se evaluó la actividad del enzima lacasa. Se encontraron dos cepas que presentaban las características descritas para las cepas hipovirulentas.

Por último, la población asturiana del hongo se estudió utilizando microsatélites (SSR, Simple Sequence Repeats) en una subcolección de 189 aislamientos en los que se ensayaron 16 loci. Siete resultaron ser monomórficos y nueve polimórficos con un número de alelos que varió de dos a cuatro. De los 13 tipos obtenidos, el tipo 1, distribuido por todas las masas afectadas, agrupó al 87,8% de los aislamientos. El tipo 6, en la zona sur-oriental, agrupó al 4,7%. Los tipos 2, 7 y 13 agruparon al 1,06% cada uno y el resto un 0,5% cada uno. Se encontró una clara relación entre los GCV y los tipos encontrados de tal forma que ningún haplotipo se encuentra en dos GCV distintos. La combinación de estos resultados avala el carácter clonal de la población de *C. parasítica* en Asturias.

PAN-117

COLONIZACIÓN DE LAS HERIDAS DE PODA DE LA VID POR HONGOS PATÓGENOS CAUSANTES DE ENFERMEDADES DE LA MADERA EN UN VIÑEDO DEL PENEDES (CATALUÑA)

Luque, J.¹; García-Figueres, F.²; Reyes, J.³; Barrios, G.⁴

¹ Dep. Patología Vegetal, IRTA. Ctra. de Cabrils km 2, 08348 Cabrils. E-mail: jordi.luque@irta.cat

² Laboratori de Sanitat Vegetal, DAR Generalitat de Catalunya. Via Circulació Nord, Tram VI, 08004 Barcelona. E-mail: fgarciafigueres@gencat.net

³ Oficina Comarcal Alt Penedès, DAR Generalitat de Catalunya. Plaça Àgora s/n, 08720 Vilafranca del Penedès. E-mail: jreyes@gencat.net

⁴ Serveis Territorials Tarragona, DAR Generalitat de Catalunya. Av. Catalunya 50, 43002 Tarragona. E-mail: gbarrios@gencat.net

La infección de los cortes de poda constituye la vía habitual de entrada de los hongos causantes de enfermedades de la madera de la vid en las plantas adultas. El objetivo de este trabajo consistió en determinar los porcentajes de infección patógena que se dan de forma espontánea en el período posterior a las tareas de poda, realizadas éstas habitualmente durante los meses de otoño e invierno. Para ello, en dos épocas distintas de muestreo, se procedió a recoger 250 muestras de sarmientos en un viñedo afectado del Penedés (con distintos niveles de yesca, eutipiosis y brazo muerto): en Febrero, tres meses después de la pre poda realizada en Noviembre, y en Mayo, después de un período de igual duración posterior a la poda de Febrero. En el laboratorio, se realizaron los aislamientos fúngicos a partir de los sarmientos, se identificaron las especies asociadas a enfermedades de la vid, y se calcularon las frecuencias de aislamiento de cada taxon.

Los hongos patógenos de la vid aislados durante todo el período experimental fueron, por orden creciente de abundancia, *Cryptovalsa ampelina*, *Phaeomoniella chlamydospora* y *Diplodia seriata*. Esta última especie fue, con diferencia, la más abundante; los porcentajes de infección estuvieron entre el 3 y 19% de los cortes de poda infectados. Además, se observó un fuerte componente estacional, con aislamientos más frecuentes en primavera (después de la poda) que en invierno (después de la pre poda). El resto de especies patógenas no mostró este comportamiento estacional tan marcado, y las frecuencias de aislamiento se situaron habitualmente por debajo del 3%.

Aunque se trata de un estudio preliminar, que necesita confirmación con nuevos aislamientos en el futuro, los datos obtenidos sugieren que retrasar la poda a los meses de Enero o Febrero podría favorecer las infecciones con *Diplodia seriata*, causante de la enfermedad del brazo muerto y uno de los patógenos más abundantes y preocupantes en Cataluña.

* Estudio financiado por el proyecto INIA RTA2007-00023-C04 y FEDER.

PAN-118

**ANÁLISIS DEL PAPEL DE LOS VIRUS EN LA DINÁMICA
DE LA POBLACIÓN DEL PIMIENTO SILVESTRE,
Capsicum annuum var. *aviculare*, EN MÉXICO**

González-Jara, P.¹, Rodelo-Urrego, M.¹, Fraile, A.¹, Piñero, D.², García-Arenal, F.¹

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, UPM-INIA, y E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Campus Montegancedo, Pozuelo de Alarcón, 28223, Madrid

² Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, AP 70-275, México, D.F.

La acción de los patógenos puede condicionar la dinámica y la estructura genética de las poblaciones de sus huéspedes. Los efectos de los virus se han analizado principalmente en cultivos. Pocos estudios de biodiversidad y programas de conservación de plantas consideran el impacto de los patógenos en las poblaciones de sus huéspedes y es común la idea de que los virus son comensales o mutualistas en poblaciones silvestres de plantas. Hemos abordado el análisis del impacto de las virosis en la dinámica de una especie vegetal silvestre, el chiltepín, *Capsicum annuum* var. *aviculare*, y la relación entre incidencia de virus y condiciones ecológicas del huésped. Se han muestreado en tres años (2007-2009) poblaciones de chiltepín representativas de la distribución de la especie en su área de origen, México, en hábitats con distinto grado de influencia antrópica. Se analizó la incidencia de virus descritos previamente infectando pimiento u otras solanáceas en México. No se detectó infección por tobamovirus a lo largo del período analizado. La presencia del tymovirus *Chiltepin yellow mosaic virus* (ChYMV) fue local, detectándose solo en una de las regiones analizadas. Los virus transmitidos por insectos homópteros, *Cucumber mosaic virus* (CMV), begomovirus y potyvirus, mostraron una amplia distribución. La incidencia de potyvirus varió notoriamente entre años mientras que CMV presentó una incidencia constante a lo largo del tiempo analizado, sugiriendo que las especies de pulgones implicadas en el proceso de transmisión y su dinámica poblacional deben diferir. Las infecciones por begomovirus mostraron una incidencia elevada con fluctuaciones notables entre años. Para caracterizar el efecto de los virus en la dinámica de la población de chiltepín se ha analizado la relación entre incidencia de virus y la estructura de edades del huésped. Además se ha analizado si la incidencia de virus depende del tipo de hábitat, silvestre o antrópico, del huésped. La comparación de la incidencia de plantas con síntomas de virus según el tipo de hábitat mostró diferencias significativas, siendo mayor en el hábitat antrópico. Un análisis similar de la incidencia de begomovirus mostró el mismo resultado, señalando que la perturbación del medio favorece una dinámica epidémica de la incidencia de begomovirus. El análisis del grado de diversidad genética presente en las poblaciones de chiltepín mostró una tendencia a pérdida de diversidad genética en las poblaciones de medios antrópicos. Además, la diversidad biológica fue significativamente mayor, y menor la densidad de población del huésped, en los medios silvestres que en los antrópicos, sugiriendo que estos factores están implicados en el incremento de incidencia de virus.

PAN-119

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LA POBLACIÓN DE BEGOMOVIRUS QUE INFECTAN AL PIMIENTO SILVESTRE (*Capsicum annuum* var. *aviculare*) EN MÉXICO

Rodelo-Urrego, M.¹, González-Jara, P.¹, Betancourt, M.¹, Pagán, I.¹, Ayllón, M.A.¹, Fraile, A.¹, Piñero, D.² y García-Arenal, F.¹

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas UPM-INIA y ETSI Agrónomos (UPM). Campus Montegancedo, Pozuelo de Alarcón- 28040 Madrid

² Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, AP 70-275, México D. F.-México

Los patógenos de plantas tienen gran importancia socioeconómica no sólo por disminuir la producción vegetal sino porque pueden condicionar la composición y dinámica de los ecosistemas silvestres. Las plantas silvestres se han estudiado a menudo como fuentes de inóculo potencial de virus para los cultivos, sin embargo, la posibilidad de que virus presentes en un cultivo se transmitan y tengan un impacto en poblaciones de plantas silvestres se ha estudiado en pocas ocasiones. En este trabajo, hemos abordado esta cuestión en el pimiento silvestre o chiltepín (*Capsicum annuum* var. *aviculare*) que es el antecesor del pimiento cultivado y que, en México, está frecuentemente infectado por los begomovirus *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV) y *Pepper huasteco yellow vein virus* (PHYVV), patógenos importantes del pimiento desde 1987.

Se ha analizado la estructura genética de las poblaciones de PepGMV y PHYVV que infectan al chiltepín, muestreando poblaciones en hábitats antropizados y silvestres a lo largo de toda su área de distribución en México entre los años 2001 y 2009. PepGMV y PHYVV están presentes en todas las poblaciones muestreadas y hay una elevada frecuencia de infecciones mixtas lo que podría facilitar la generación de nuevos genotipos por recombinación entre ambas especies de begomovirus. Se realizó un análisis de la ocurrencia de recombinación y los resultados mostraron que no hay evidencia de recombinación entre los aislados de PepGMV y PHYVV. Se observó, en cambio, una alta frecuencia de genotipos recombinantes dentro de los aislados de PepGMV y PHYVV. Para inferir la estructura genética de las poblaciones de PepGMV y PHYVV se usó un fragmento del gen de la proteína de la cápsida. Los resultados mostraron que PepGMV y PHYVV no se estructuran genéticamente ni por región geográfica ni por tipo de hábitat. En una segunda aproximación, se analizó la secuencia completa del ADN A de un subconjunto de aislados de PepGMV y PHYVV. Los resultados mostraron que los aislados de ambos virus procedentes de la región geográfica de Yucatán se agruparon en un grupo diferente al resto de los aislados procedentes de otras regiones. Estos resultados contrastan con la estructura genética del chiltepín que está fuertemente estructurada por región geográfica y sugieren una expansión epidémica reciente de PepGMV y PHYVV en las poblaciones del chiltepín, en paralelo con su emergencia en cultivos del pimiento.

PAN-120

ESTUDIO PRELIMINAR PARA DETERMINAR LA TRANSMISIÓN POR SEMILLA DEL VIRUS DEL TORRADO DEL TOMATE (ToTV)

Alfaro-Fernández, A.¹, Cebrián, M.C.¹, Córdoba-Sellés, M.C.¹, Font, M.I.¹, Juárez, M.², Jordá, C.¹

¹ Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cno. Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: analfar1@doctor.upv.es

² Universidad Miguel Hernández. Carretera de Beniel km 3,2. 03312 Orihuela, Alicante.

A principios de 2009 se recolectaron en un invernadero de Murcia un total de 302 frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar Boludo que presentaban costuras necróticas, típicas de la enfermedad conocida como «torrao» del tomate, que los hacían no comercializables.

Para verificar la presencia en la pulpa del virus del torrado del tomate (*Tomato torrado virus*, ToTV) se seleccionaron cuatro frutos al azar que se analizaron por RT-PCR con cebadores específicos de ToTV. Una vez confirmada la presencia de este virus, y la coinfección de las muestras con PepMV, se procedió a la extracción manual y secado de las semillas. Estas se agruparon en muestras de seis semillas enteras y se analizaron mediante RT-PCR verificándose la presencia de ToTV en el 100% de las muestras. Asimismo, se evaluó la sensibilidad de la técnica de diagnóstico para este virus en semillas infectadas, constituyendo muestras con mezclas entre semillas sanas y diverso número de semillas infectadas, obteniéndose una alta especificidad, pudiendo detectarse el virus hasta en una proporción 1/250.

Posteriormente estas semillas se sembraron y se dejaron crecer en una cámara de cultivo bajo condiciones controladas y estricto aislamiento fitosanitario, evaluándose su emergencia y periódicamente monitorizando la presencia de síntomas en las plántulas. Transcurridos 20 días desde la siembra, se analizaron los cotiledones de las plántulas emergidas agrupándolos en muestras de 6 plántulas frente a ToTV y PepMV. Todas las plantas hasta ese momento fueron asintomáticas. De las 108 muestras analizadas (648 plántulas), ninguna resultó infectada con ToTV, sin embargo sí se detectó PepMV en una de las muestras analizadas.

A pesar de los resultados negativos obtenidos en este ensayo preliminar, se continúa este trabajo con mayor número de semillas procedentes de frutos infectados realizando ensayos de transmisión de ToTV ya que se sospecha la posibilidad de este tipo de transmisión, dada la distribución mundial de este virus.

PAN-121

CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA Y MOLECULAR DE DISTINTOS AISLADOS ESPAÑOLES DE *Pepino Mosaic Virus* (PepMV)

Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Herrera-Vásquez, J.A., Cebrián, M.C., Jordá, C.

Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022 Valencia. E-mail: mcorsel@doctor.upv.es

Desde que en 1999 fuera identificado el *Pepino mosaic virus* (PepMV) infectando cultivos protegidos de tomate en Holanda y Reino Unido, se ha convertido en uno de los principales patógenos del tomate a nivel mundial. Diferentes sintomatologías han sido asociadas a este virus, desde mosaicos dorados o verdes en distintas posiciones dentro de la hoja, amarillos internerviales, deformaciones del limbo foliar que pueden llegar a confundirse con efectos fitotóxicos debidos a tratamientos herbicidas u hormonales, y muy especialmente, distintos manchados en los frutos que complican su comercialización. Sin embargo, estos síntomas que están muy influenciados por las condiciones de iluminación y temperatura, desapareciendo en el transcurso de pocas semanas, no son generalizados en todas las plantas infectadas del mismo cultivo ni tampoco en una misma planta. Tras la identificación a nivel molecular de la existencia de distintas cepas virales, se ha intentado relacionar en distintos trabajos la respuesta sintomatológica con el genotipo del aislado. En este trabajo se seleccionaron distintos aislados españoles de PepMV que diferían tanto por origen y virulencia en campo como por su genoma, para comparar la evolución sintomatológica que se producía tras su inoculación simultánea en distintas especies hospedantes, así como en 3 variedades comerciales de tomate, bajo las mismas condiciones climáticas y de cultivo. La evolución de los síntomas se monitorizó durante 40 días y a continuación las plantas fueron analizadas mediante técnica serológica DAS-ELISA con suero comercial de PepMV (DSMZ). Mediante análisis molecular por RT-PCR con cebadores específicos que amplifican la proteína de cubierta del virus y posterior análisis de restricción se verificó tanto la infección en las plantas inoculadas como el mantenimiento del tipo génico de los aislados inoculados. El desarrollo de los síntomas dependió no solo de las condiciones climáticas sino también del aislado viral inoculado, comprobándose la existencia de diferencias en susceptibilidad a las distintas cepas virales en las principales especies de solanáceas cultivadas. Estos resultados ponen de manifiesto que el PepMV puede suponer un serio riesgo para el cultivo de otras solanáceas distintas al tomate.

PAN-122

**CUANTIFICACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS INFECCIONES
CON AISLADOS NO AGRESIVOS DE *Pepino Mosaic Virus* (PepMV)
EN CULTIVOS COMERCIALES DE TOMATE**

Córdoba-Sellés, M.C.¹, Alfaro-Fernández, A.¹, Herrera-Vásquez, J.A.¹, Cebrián, M.C.¹, Font, M.I.¹, Jordá, C.¹, Guerrero, M.M.², Lacasa, A.², Juárez, M.³

¹ Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022 Valencia. E-mail: mcorsel@doctor.upv.es

² Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario. C/ Mayor s/n. 30150 La Alberca-Murcia

³ Escuela Politécnica Superior de Orihuela. Universidad Miguel Hernández de Elche. Carretera de Beniel Km 3.2. 03312 Orihuela-Alicante

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las especies hortícolas más cultivadas a nivel mundial y que a nivel comercial en España, goza de mayor importancia. La producción española de 2007 rondó los 3.6 millones de toneladas, de las que aproximadamente el 50% se destinó a la exportación. Anualmente el cultivo de tomate sufre importantes pérdidas ocasionadas por la infección de agentes patógenos de etiología viral. El *Pepino mosaic virus* (PepMV) se ha convertido en la actualidad en uno de los factores limitantes de la producción de tomate a nivel mundial, sin embargo hasta el momento no se disponen de datos experimentales que sirvan para cuantificar las pérdidas ocasionadas en nuestro país, lo que motivó el planteamiento de este trabajo.

Se llevaron a cabo dos ensayos de invernadero en las instalaciones del IMIDA en Torreblanca (Murcia), en los que se cuantificó el efecto real en el cultivo, de la infección tardía con dos aislados poco agresivos de PepMV de las cepas EU y Ch2, a lo largo de todo un ciclo de cultivo comercial.

A lo largo de todo el ciclo, desde que se realizó la inoculación, distintos aspectos se evaluaron semanalmente: infección de las plantas; evolución de la concentración del virus en planta; aparición, tipo y evolución de los síntomas; número de flores/ramillete; número, peso, calibre y calidad de los frutos recolectados.

De los resultados obtenidos en las dos campañas podemos afirmar que la infección de las plantas con la cepa no agresiva-EU del virus no llegó a afectar significativamente la producción total obtenida, a diferencia de lo que se observó durante el ensayo con el aislado de la cepa no agresiva-Ch2.

PAN-123

EVOLUCIÓN DE LA ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES ESPAÑOLAS DE *Pepino Mosaic Virus* (PepMV)

Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Herrera-Vásquez, J.A., Cebrián, M.C., Font, M.I., Jordá, C.

Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022 Valencia. E-mail: mcorsel@doctor.upv.es

Se sospecha que el origen del *Pepino mosaic virus* (PepMV) se localiza en Sur America, donde fue descrito y caracterizado por primera vez en 1974 en plantas de pepino dulce (*Solanum muricatum*). La primera detección de este virus en tomate es el año 1999 en Holanda y Reino Unido. Desde entonces el PepMV se ha extendido muy rápidamente por las zonas productoras de tomate, no solo europeas sino también de América, Asia y África. Durante la última década, la disponibilidad de secuencias génicas de distintos aislados de PepMV de distintas procedencias ha permitido la identificación de 4 cepas del virus (EU, PE, Ch2 y US1) y la realización de estudios de variabilidad genética y estructura poblacional. Desde el momento en que se detectó en España la primera epidemia de PepMV, hemos venido realizando muestreos en las distintas zonas productoras españolas para la recolección de muestras sintomáticas. Tras el análisis serológico de las muestras con distintos sueros específicos de virosis ya descritas en España en tomate, aquellas que resultaron positivas a PepMV fueron sometidas a un profundo análisis molecular en el que hemos combinado los resultados obtenidos por dos metodologías distintas. La primera de ellas consiste en el análisis mediante RT-PCR con dos parejas de cebadores específicos distintos: una pareja que amplifica un fragmento de la polimerasa y otra segunda que amplifica la proteína de cubierta completa del virus y posterior análisis de RFLP. La segunda técnica molecular empleada fue la Multiplex-RT-PCR con cebadores específicos de cada cepa del virus. De esta forma hemos podido conocer la estructura genética de la población viral en cada epidemia anual y su evolución a lo largo de años hasta el momento actual. Los resultados que presentamos son de vital importancia a la hora de plantear métodos eficaces para el control de esta virosis en nuestro país, donde se ha convertido en endémica y donde la erradicación es, sin lugar a dudas, imposible.

PAN-124

TRANSMISIBILIDAD DE BCMV EN SEMILLA DE VARIEDADES LOCALES DE ALUBIA DE LEÓN INFECTADAS NATURALMENTE Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD

Campelo, M. P.¹, Reinoso, B.¹, González, A. J.²

¹ Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias. E.S.T.I. Agraria. Universidad de León. Avda. de Portugal, 41. 24071 León

² Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Ctra. de Oviedo, s/n. 33300 Villaviciosa. Asturias. E-mail: piedad.campelo@gmail.com

Uno de los principales problemas sanitarios del cultivo de la alubia (*Phaseolus vulgaris* L.) en León es el Virus del mosaico común (BCMV - *Bean common mosaic virus*), *Potyvirus* transmitido por áfidos y por semilla. En cuanto a esta última forma de dispersión, en estudios preliminares, llevados a cabo en las variedades locales Canela y Pinta, se estimó que el porcentaje de transmisión ronda el 30%. En este trabajo se presentan los experimentos realizados para completar los trabajos anteriores menos minuciosos, cuantificando de forma precisa esta transmisibilidad y estudiando su relación con la calidad y el calibre de las semillas obtenidas de plantas infectadas de forma natural por BCMV, de las variedades Canela y Pinta, ambas incluidas en la Indicación Geográfica Protegida (I.G.P.) «Alubia de La Bañeza-León». El experimento se realizó en un invernadero estanco cerrado con malla anti-pulgón. Se seleccionaron semillas cuyo porcentaje de infección viral se determinó analizando los extractos de 100 embriones mediante ELISA-Indirecto, siendo 22% en Canela y 28% en Pinta. Se marcaron alrededor de 600 plantas individualmente y se testaron en estado fenológico V3, procediéndose a transplantar 43 plantas infectadas de cada variedad, las cuales fueron cosechadas individualmente. Se realizó una selección visual de la cosecha separándose las semillas que mostraban defectos tales como rotura, coloración, forma anómala y manchas, y las restantes se clasificaron por calibre; para Canela se emplearon tamices rayados con luces de 7×2,7; 6,5×3; 6×2,5 y 5,5×2,5 mm y para Pinta redondos de 9; 8; 8 y 7,5 mm de diámetro. Todas las semillas se testaron serológicamente utilizando los embriones. Se cosecharon más de 1.000 semillas por variedad, cuantificándose una transmisibilidad del BCMV del 25,78% en Canela y del 29,04% en Pinta. El porcentaje de semillas defectuosas fue del 10,60% y 16,62%, respectivamente, y, en ambos casos, más del 33% de las mismas mostraron infección viral. Cabe destacar, además, que se observó una tendencia creciente en el nivel de infección a medida que se redujo el calibre de la semilla, siendo más acusada esta tendencia en el caso de Pinta. Por tanto, puede decirse que en ambas variedades la transmisión de BCMV por semilla es muy similar y que parece existir relación entre la infección por el virus y el calibre de ésta.

PAN-125

VARIABILIDAD GENÉTICA Y EVOLUCIÓN DEL VIRUS DEL AMARILLO DE LAS CUCURBITÁCEAS TRANSMITIDO POR PULGONES EN EL SURESTE ESPAÑOL

Kassem, M.¹, Juárez, M.², Aranda, M.A.¹

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)- CSIC, Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Apdo. correos 164, 30100 Espinardo, Murcia. E-mail: m.aranda@cebas.csic.es

² Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. de Beniel km 3.2, 03312 Orihuela, Alicante. E-mail: miguel.juarez@umh.es

El sureste español es una de las zonas de producción de frutas y hortalizas más importantes del país. El cultivo intensivo del melón y otras cucurbitáceas, como pepino, calabacín y sandía, es muy importante en esta zona. Sin embargo, el rendimiento y la calidad de la producción a menudo se ven amenazados por los virus. Entre ellos, el más extendido es el virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgones (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*, CABYV; Kassem *et al.*, 2006. *Plant Disease* 91:232-238). CABYV es un polerovirus (familia *Luteoviridae*) de partículas isométricas, restringido a floema y transmitido por pulgones de forma persistente, circulativa y no propagativa. En este trabajo hemos secuenciado completamente el RNA genómico de tres aislados españoles de CABYV, que han resultado tener una identidad nucleotídica del 87% al 93% con los aislados completamente secuenciados de Francia y China. El alineamiento de sus secuencias, análisis filogenéticos y la aplicación de algoritmos para detectar recombinación sugirieron el potencial origen recombinante de al menos uno de los aislados. Adicionalmente, hemos estudiado la estructura genética y variabilidad de poblaciones de CABYV muestreadas de plantas de melón y calabacín durante tres campañas (2003, 2004 y 2005) en Campo de Cartagena (Murcia). Se secuenciaron dos regiones genómicas de 54 aislados, incluyendo las regiones que codifican P3 y CP/P5. La diversidad nucleotídica media en posiciones sinónimas para la población entera fue de 0.022, 0.021 y 0.046 para las regiones CP, P5 y P3, respectivamente. Estos resultados sugirieron una alta diversidad de la población, ya que estos valores de diversidad son más de 20 veces superiores a los encontrados para otros virus de plantas muestreados con parecida escala geográfica, y similares a los valores obtenidos para virus de plantas muestreados con escalas geográficas y/o temporales mucho más amplias. Por otra parte, los resultados mostraron que la población está estructurada genéticamente: los análisis filogenéticos sugirieron la existencia de dos subgrupos genéticos para la región CP/P5 y tres subgrupos para la región P3. Sin embargo, los análisis poblacionales llevados a cabo no mostraron que esta subdivisión estuviera asociada con huésped, año o localidad de muestreo. Por tanto, otros factores deben mantener la estructura genética observada.

PAN-126

ESTUDIO DE LA GAMA DE HUÉSPEDES DEL VIRUS DEL AMARILLO DE LAS CUCURBITÁCEAS TRANSMITIDO POR PULGONES (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*, CABYV) EN CULTIVOS Y FLORA ARVENSE DEL SURESTE ESPAÑOL

Sánchez, J.M.¹, Gómez, P.¹, Kassem, M.¹, Aranda, M.A.¹, Juárez, M.²

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)- CSIC, Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, Apdo. correos 164, 30100 Espinardo, Murcia. E-mail: m.aranda@cebas.csic.es

² Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. de Beniel km 3.2, 03312 Orihuela, Alicante. E-mail: miguel.juarez@umh.es

Desde la detección por primera vez de CABYV en la Comarca de Campo Cartagena (Murcia) en 2004 (Juárez et al., 2004), se ha venido observando un paulatino incremento de la incidencia y daños ocasionados por este virus en especies de cucurbitáceas cultivadas, tanto en invernadero como al aire libre. El conocimiento de la epidemiología de esta virosis, estudiando el flujo del inóculo primario y el papel que juegan las dinámicas poblacionales del virus y sus vectores, podrán contribuir al diseño de estrategias que sirvan para la prevención y control de esta grave afección. Para ello, en este trabajo se ha planteado ampliar el conocimiento sobre la gama de huéspedes de CABYV, iniciado por Lecoq et al. (1992), centrando nuestra prospección en la flora arvensis y cultivos más frecuentes en la zona del Sureste Peninsular.

El estudio se ha desarrollado muestreando durante la campaña verano-otoño de 2009 tres parcelas de cultivo de calabacín con una incidencia de CABYV superior al 80%. Se muestrearon plantas adventicias en el interior y zonas colindantes de las parcelas de cultivo, y también algunas especies de plantas cultivadas cercanas a las parcelas de estudio. Se seleccionaron aquellas plantas que presentaban algún tipo de anomalía como clorosis, cambios de coloración, mosaicos y falta de desarrollo, y se analizaron para detectar CABYV mediante serología. De las plantas espontáneas se analizaron al menos cinco plantas de 27 especies distintas pertenecientes a 9 familias botánicas. Entre las cultivadas, se analizaron lechuga, haba, tomate, patata, pimiento, apio y remolacha.

Entre las especies arvenses que resultaron positivas se encuentran: *Abutilon theophrasti*, *Chenopodium murale*, *Malva* sp., *Senecio vulgaris*, *Senecio arvensis*, *Sonchus oleraceus* y *Ecballium elaterium*. De éstas, sólo habían sido citadas con anterioridad *Senecio arvensis*, *Sonchus oleraceus* y *Ecballium elaterium*. Entre las especies cultivadas ninguna resultó positiva, habiendo sido citadas en la bibliografía como reservorios de CABYV la lechuga y la remolacha. Cabe señalar el importante papel que pueden jugar estas especies reservorio como fuentes de inóculo ampliamente extendidas entre la flora espontánea de nuestro entorno solapando los diferentes ciclos de cultivo de cucurbitáceas.

PAN-127

BÚSQUEDA DE HOSPEDANTES ALTERNATIVOS DEL *Iris yellow spot virus* (IYSV) EN LA PROVINCIA DE ALBACETE

Muñoz, R. M.¹, Lerma, M. L.¹, Mansilla, J.², Castillo, P.¹

¹ Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete. Apdo. Correos 451. 02006 Albacete. E-mail: rmg.itap@dipualba.es

² Dpto. Producción Vegetal y Tecnología Agraria. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Albacete. Campus Universitario s/n. 02071 Albacete

El IYSV (familia *Bunyaviridae*, género *Tospovirus*) es un virus patógeno con importancia económica en el cultivo de la cebolla. Se transmite exclusivamente por el trips de la cebolla (*Thrips tabaci*). Varias especies cultivadas susceptibles, principalmente del género *Allium*, así como algunas plantas espontáneas, pueden actuar como reservorios de inóculo.

En este trabajo se presentan los primeros muestreos efectuados con el fin de indagar la presencia de hospedantes alternativos en la principal provincia productora de España, Albacete.

Se han efectuado muestreos en dos parcelas que presentaron importantes pérdidas económicas asociadas a la presencia del IYSV. La primera parcela fue detectada en el año 2005, con un porcentaje de plantas positivas, según el test ELISA, del 84% y pérdidas económicas superiores al 60% en rendimiento. En la segunda parcela, muestreada en 2007, la disminución de la producción se valoró en el 50%, presentando una incidencia del virus del 68%, según los resultados del test ELISA. En ambas parcelas se localizaron plantas espontáneas y cebollas rebrotadas. Asimismo, se muestrearon seis parcelas cultivadas con ajos. Los diagnósticos se han efectuado utilizando dos técnicas: test ELISA e IC-RT-qPCR.

Las plantas espontáneas han sido identificadas como pertenecientes a 23 especies distintas (20 géneros y 11 familias: *Chenopodiaceae*, *Compositae*, *Convolvulaceae*, *Cruciferae*, *Fumariaceae*, *Gramineae*, *Papaveraceae*, *Polygonaceae*, *Scrophulariaceae* y *Umbeliferae*).

En todos los casos, el diagnóstico ha sido negativo. Por tanto, hasta la fecha no se han detectado especies que puedan ser hospedantes alternativos del IYSV, en la principal zona productora de cebolla de España.

PAN-128

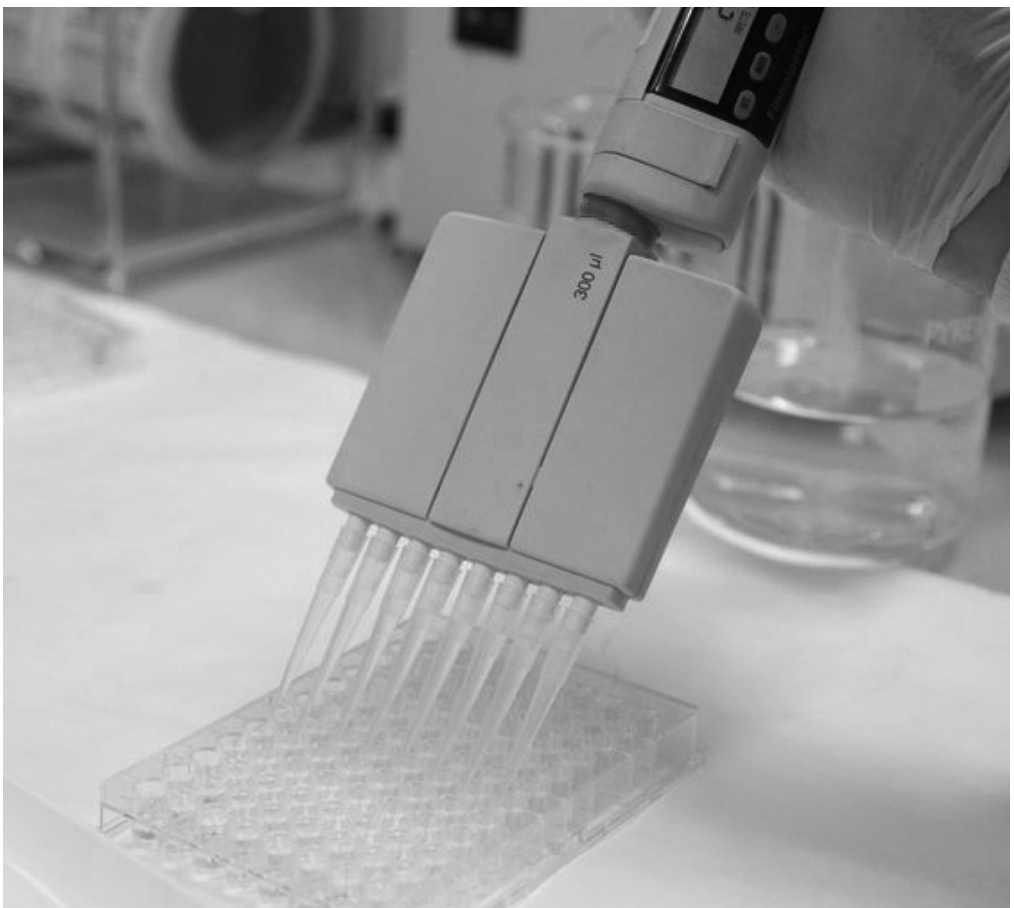
**LOS AISLADOS ESPAÑOLES DEL VIRUS DEL AMARILLAMIENTO
NECRÓTICO DEL HABA (FBNYV) CONSTITUYEN UNA POBLACIÓN
VIRAL ESTABLECIDA EN LA REGIÓN**

Navarro, E., Del Cueto-Ginzo, A., Carazo, G., Romero, J.

Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña Km. 7.0, 28040-Madrid. E-mail: romero@inia.es

El nanovirus del amarilleamiento necrótico del haba (*Faba bean necrotic yellows nanovirus*, FBNYV) está constituido de 8 componentes de 1Kb de DNA de cadena sencilla. Este virus ha causado grandes daños en los cultivos de leguminosas de Asia menor y norte de África y fue detectado en España infectando cultivos de haba en la región de Murcia. Aislados con síntomas de FBNYV fueron recolectados durante las campañas 2002 – 2009 y su etiología viral fue confirmada por Elisa e hibridaciones moleculares. Para analizar la diversidad genética del FBNYV en España, los diversos componentes de los aislados españoles fueron obtenidos por PCR usando cebadores que amplificaban el DNA completo de todos los componentes o por RCA (Rolling circle amplification). Cebadores internos específicos fueron utilizados para identificar por PCR los diferentes componentes del virus. Las secuencias completas de los 8 componentes de 15 aislados españoles fueron comparadas con las secuencias de los componentes genómicos de otros nanovirus incluidos en el Banco de genes. Resultados de las comparaciones de secuencias y análisis filogenéticos mostraron que los aislados del FBNYV fueron agrupados en dos sub-poblaciones: una formada por los aislados españoles y un aislado de Marruecos y la otra por los aislados de Siria, Egipto e Irán. Los aislados analizados fueron agrupados independientemente de su origen, año o huésped. Cuando analizamos las distancias genéticas la diversidad no resultó alta en ninguno de los componentes genómicos, siendo la proporción de $d_{NS}/d_S < 1$, indicando que una selección negativa está actuando en la evolución del virus. La variabilidad de la población española del FBNYV parece asociada a la distancia geográfica, permaneciendo estable a lo largo del tiempo de muestreo. El análisis de los aislados españoles del FBNYV, muestra una correlación positiva entre distintos componentes genómicos en los huéspedes, que sugieren una tendencia a la asortación o asociación entre componentes, indicando la posible existencia de una población viral establecida en la región.

**PANELES DE
SESIÓN SIMULTÁNEA III:
ETIOLOGÍA Y
DIAGNÓSTICO**



PAN-129

***Spiroplasma citri* Y Aster Yellows IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE AMARILLEOS, ENROJECIMIENTOS Y DEFORMACIONES EN LOS CULTIVOS DE ZANAHORIA EN ESPAÑA**

Font, M.I.¹, Cebrián, M.C.¹, Villaescusa, F.J.¹, Alfaro-Fernández, A.¹, Córdoba-Sellés, M.C.¹, Ferrándiz, J. C.², Sanjuán, S.², Reyes J.A.³, Siverio, F.³, Jordá, C.¹, Hermoso de Mendoza, A.⁴.

¹Laboratorio de Virología del Instituto Agroforestal Mediterraneo de la Universidad Politécnica de Valencia (IAM-UPV). Camino de Vera s/n, 46022-Valencia. E-mail: mafonsa@upvnet.upv.es

²Agrícola Villena Coop. V., Crta. del Puerto s/n, 03400-Villena (Alicante).

³Servicio de Sanidad Vegetal. Avda. José Manuel Guimerá, 8. Edf. Usos Múltiples II, Planta 3ª 38071 Santa Cruz de Tenerife E-mail: fsivros@gobiernodecanarias.org

⁴IVIA, Carretera Moncada-Náquera, Km. 4,5, 46113 Moncada (Valencia)

Desde la década de los 80 se viene observando en diferentes zonas productoras de zanahoria de la Península e Islas Canarias amarillos, enrojecimientos, proliferación de hojas, deformación y reducción del tamaño de las raíces, y en ocasiones proliferación de raicillas secundarias. En 1997-1998, se identificaron los fitoplasmas Stolbur y Aster Yellows como agentes implicados en su desarrollo, que se denominó «Enfermedad de los amarillos y enrojecimientos de la zanahoria». En verano de 2008, cultivos de zanahoria de Villena (Alicante) mostraron síntomas de esta enfermedad. En una primera aproximación, se identificó el fitoplasma Aster Yellows en un bajo porcentaje de plantas sintomáticas, lo que hizo sospechar de la posible implicación de algún otro agente fitopatógeno. En un estudio realizado durante el 2009 para determinar los posibles insectos vectores de la enfermedad, se observaron elevadas poblaciones del psílido *Bactericera trigonica* en los cultivos de zanahoria de Tenerife; y en Villena se detectaron también elevadas poblaciones de psílidos (2/3) y cicadélidos (1/3). Entre los cicadélidos encontrados en Villena, se identificó mayoritariamente *Circulifer haematoceps*, principal transmisor de *Spiroplasma citri* en el área del Mediterráneo, patógeno causante de la enfermedad denominada «Stubborn» en los cítricos. El empleo de la técnica Nested-PCR utilizando cebadores específicos de *S. citri* (ScR16F1/ScR16R1 y ScR16F1A/ScR16R2) y la posterior secuenciación del fragmento amplificado, han permitido identificar *S. citri* en infección simple y mixta con el fitoplasma Aster Yellows en varias de las muestras de zanahoria sintomáticas de Villena, pero no en las de Tenerife. Este diagnóstico constituye la primera cita de *S. citri* en cultivos de zanahoria de Europa, y su relación con el desarrollo de amarillos, enrojecimientos y deformaciones. No se descarta la implicación en el desarrollo de la esta enfermedad de algún otro agente, ni la importancia de las psilas en su transmisión.

PAN-130

**PRIMERA DETECCIÓN DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*
EN TITARRO (*Lathyrus cicera* L.)**

Palomo, J.L.¹, Martín-Sanz, A.², Pozo, B.², García, C.A.², Rodríguez, M.J.², Caminero, C.²

¹ Centro Regional de Diagnóstico, Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, Apdo. 61, 37080, Salamanca. E-mail: palgomjo@jcy.es.

² Instituto Tecnológico Agrario, Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, Ctra Burgos, km 119, 47071, Valladolid.

El titarro (*Lathyrus cicera* L.) es una leguminosa grano cultivada en la actualidad de forma marginal en el centro-norte de Castilla y León, Cuenca y La Segarra (Lérida). Se trata de un cultivo autóctono, muy rústico y adaptado a las condiciones de nuestros secanos más duros.

En el año 2009 se recibieron en Centro Regional de Diagnóstico muestras de una variedad tradicional de titarro procedentes de Vallunquera (Burgos) con manchas grasientas en la base de las hojas y en los tallos. De dichas plantas se obtuvo un aislado bacteriano gram-negativo que mostró fluorescencia en medio King B, oxidativo en Hugh-Leifson y con un patrón LOPAT +---+. Asimismo, fue capaz de asimilar manitol, inositol, sorbitol, eritritol, betaina, trigonelina, L-lactato y DL-homosserina; pero no L-tartrato ni D-trartrato. Se evaluaron más fuentes de carbono mediante el sistema API50CH. Este aislado también amplificó un fragmento de 752 pb del gen *syrB*. Por último, estos aislados causaron una severa necrosis cuando fueron inoculados mediante punción en frutos de limón (cv. Primofloro) y vainas de judía (cv. Ancha Lisa) (suspensiones a 10⁸ ufc/ml, 5 heridas, 50 µl por herida y dos repeticiones).

En función de todas las anteriores pruebas realizadas, el aislado fue identificado como *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Posteriormente cada aislado fue inoculado en dos réplicas de 5 plantas de los siguientes cultivos: veza (cv. Buza y Rumbo), guisante (cv. Iceberg, Gracia y Kelvendon Wonder), lenteja (cv. Guareña y Paula), garbanzo (cv. Elvira y Duratón), yeros (cv. ZV-27 y ZV-19) y titarro (cv. ZL-04, ZL-10, ZL-41 y ZL-135). Diez días después de la inoculación se observaron síntomas necróticos en todos los materiales inoculados, encontrándose la mayor severidad en titarro, garbanzo y veza. También se ha realizado una caracterización genética mediante rep-PCR de este aislado y de otros de este patovar procedentes de diversos cultivos y orígenes geográficos. Hasta donde llega nuestro conocimiento esta es la primera identificación de *P. syringae* pv. *syringae* en titarro a nivel mundial.

PAN-131

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* PROCEDENTES DE VEZA (*Vicia sativa* L.)

Martín-Sanz, A.¹, Palomo, J.L.², Pozo, B.¹, García, C.A.¹, Rodríguez, M.J.¹, Caminero, C.¹

¹ Instituto Tecnológico Agrario, Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, Ctra. Burgos, km 119, 47071, Valladolid. E-mail: camsalco@itacyl.es

² Centro Regional de Diagnóstico, Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León, Apdo. 61, 37080, Salamanca

La veza (*Vicia sativa* L.) es una leguminosa grano empleada para alimentación animal que juega un papel fundamental en las rotaciones de los secanos españoles. Se cultivan actualmente en España unas 42 mil ha (6º productor mundial en 2008), representando Castilla y León el 56,8% del total. En las primaveras de los años 2007 y 2008 se observaron lesiones necróticas en tallos y hojas en cinco parcelas de veza en los alrededores de Medina de Rioseco (Valladolid), cuatro de ellas sembradas con el cultivar Buza. La incidencia de la enfermedad se estimó en un 20%.

Se obtuvieron un total de 10 aislados bacterianos gram-negativos, con fluorescencia en medio King B, oxidativos en Hugh-Leifson y con un patrón LOPAT +---+. Todos ellos fueron positivos para eritritol, L-lactato, DL-homoserina, e hidrólisis de esculina y gelatina; y negativos para L-tartrato. Asimismo, amplificaron un fragmento de 752 pb correspondiente a *syrB*. Por último, estos aislados causaron una severa necrosis cuando fueron inoculados mediante punción en frutos de limón (cv. Primofloro), vainas de judía (cv. Ancha lisa) y vainas de guisante (cv. Ucero). Estas inoculaciones se realizaron con suspensiones a 10⁸ ufc/ml, 5 heridas por órgano (50 µl en cada una) y en dos repeticiones. En función de todas las anteriores pruebas realizadas, los aislados fueron identificados como *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

Posteriormente cada aislado fue inoculado en dos réplicas de 10 plantas de veza (cv. Buza) mediante la inyección de 200 µl en el tallo de una suspensión bacteriana (10⁸ ufc/ml). Diez días después de la inoculación, se observaron síntomas de necrosis en todas las plantas inoculadas similares a los vistos en el campo, y a los quince días murieron. Los postulados de Koch fueron demostrados a partir de estas últimas inoculaciones. Por último, se ha realizado una caracterización genética mediante rep-PCR de estos aislados y de otros de este patovar de diversos cultivos y países.

Hasta donde llega nuestro conocimiento esta es la primera identificación de *P. syringae* pv. *syringae* en veza en España. Previamente se había identificado Francia, y en *V. villosa* (una especie relacionada con veza) en Estados Unidos.

PAN-132

**EVALUACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE PCR A TIEMPO REAL
PARA LA DETECCIÓN DE *Curtobacterium flaccumfaciens* pv.
flaccumfaciens EN SEMILLA DE JUDÍA**

Palomo, J.L., Quintano, B., García-Benavides, P.

Centro Regional de Diagnóstico, Junta de Castilla y León. Apdo. 61, 37080 Salamanca. E-mail: palgomjo@jcy.es

Curtobacterium flaccumfaciens pv. *flaccumfaciens* (Cff) es una bacteria de cuarentena incluida en la lista B de la Unión Europea, que afecta principalmente al cultivo de la judía (*Phaseolus vulgaris*). España se considera zona protegida frente a esta enfermedad, y para mantener este estatus debe realizar controles periódicos en la producción de semilla de judía.

En el año 2001 se produjo la primera detección de Cff en semilla de judía en España. Desde entonces se ha detectado en casos aislados en los que se han aplicado medidas de erradicación.

En el protocolo de análisis habitual, basado en el procedimiento de la EPPO, se realizan aislamientos a partir de macerados obtenidos de varias submuestras de semilla de judías. Sin embargo Cff es una bacteria de crecimiento lento que puede quedar enmascarada por la flora bacteriana presente en la semilla de judía, lo que dificulta su aislamiento.

Se ha ensayado un protocolo de PCR a tiempo real (SYBR® Green), basado en el protocolo de amplificación descrito por Tegli et al (2002) que amplifica un fragmento de 306 pb, con el procedimiento de extracción de Llop et al. (1999), comparándolo con el procedimiento clásico de aislamiento. Para ello se han realizado suspensiones bacterianas a distintas concentraciones (105 a 100 ufc/ml) en extractos homogéneos de semilla de judía, aplicando sobre ellas ambos métodos.

La sensibilidad de la técnica de PCR a tiempo real se situó entre 102 y 103 ufc/ml, mientras que con el aislamiento se estableció entre 103 y 104 ufc/ml. PCR a tiempo real es algo más sensible que el aislamiento clásico, sin embargo, al tratarse de un patógeno de cuarentena, es conveniente tener la bacteria aislada para una completa identificación y la comprobación de su poder patógeno.

El protocolo de análisis recomendado sería la utilización de PCR a tiempo real sobre extractos de judía como prueba de «screening» rápida, y en aquellas muestras con resultado positivo intensificar las siembras en medio de cultivo hasta conseguir el aislamiento de la bacteria.

PAN-133

***Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, CAUSANTE DE LA MANCHA BACTERIANA DE LOS FRUTALES DE HUESO, IDENTIFICADA POR PRIMERA VEZ EN EUROPA EN ALMENDRO**

Roselló, M.¹, Palacio-Bielsa, A.², Cambra, M. A.³; Morente C.⁴, López, M.M.⁴

¹ Laboratorio de Diagnóstico. Generalitat Valenciana. Ctra. Alicante-Valencia km 276,5. 46460 Silla. Valencia. E-mail: rosello_monper@gva.es

² Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Av. Montañana, 930. 50059 Montañana. Zaragoza. E-mail: apalaciob@aragon.es

³ Centro de Protección Vegetal (CPV). Av. Montañana, 930. 50059 Montañana. Zaragoza. E-mail: mcambra@aragon.es

⁴ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada-Náquera km 4,5. 46113. Moncada. Valencia. E-mail: mlopez@ivia.es

La mancha bacteriana de los frutales de hueso (*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) solo había sido descrita en almendro en Australia y Nueva Zelanda. Tras la detección de este patógeno en España en melocotonero, ciruelo japonés y otros frutales, en la C. Valenciana y Aragón se ha detectado en almendro, lo que constituye además la primera cita en este huésped en Europa.

La enfermedad presenta una sintomatología en hojas y ramas de almendro que coinciden con la causada por *X. arboricola* pv. *pruni* en otros frutales de hueso, pero difiere en la de los frutos. En hojas se observan pequeñas manchas necróticas poligonales, visibles tanto por el haz como por el envés, y en ocasiones rodeadas de un halo amarillento. A veces, las lesiones evolucionan a cribado. Las hojas afectadas son preferentemente las de la base de los brotes y las desarrolladas a partir de la madera de más de un año. Es frecuente que las manchas se agrupen en los márgenes del limbo, junto al nervio central, o en el ápice de las hojas. En ramas también se observan a veces los chancros típicos de la enfermedad y en las ramillas pueden formarse chancros de primavera, de verano y puntas negras en invierno. Los primeros síntomas en fruto se observan en primavera, en forma de manchas oscuras y hundidas en el mesocarpio, con frecuente aparición de exudados de goma. Estos síntomas evolucionan en verano, con la deshidratación natural del mesocarpio y las manchas que antes aparecían hundidas ahora sobresalen en la superficie del fruto con forma circular. Parte de la cosecha puede caer prematuramente. En ocasiones se observan también manchas oscuras circulares en la cáscara (endocarpio) que pueden llegar a afectar a la semilla.

El aislamiento de *X. arboricola* pv. *pruni* se realizó a partir de muestras de los órganos citados, que también fueron positivas en PCR, y la identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas, moleculares y de patogenicidad. Además la bacteria se aisló de las hojas con síntomas de las plantas inoculadas.

PAN-134

**ASTER YELLOWS Y STOLBUR: FITOPLASMAS IMPLICADOS
EN EL DESARROLLO DE NUEVAS SINTOMATOLOGÍAS
EN CULTIVOS DE APIO Y CHIRIVÍA EN ESPAÑA.**

Cebrián, M.C.¹, Villaescusa, F.J.¹, Jordá, C.¹, Córdoba-Sellés, M.C.¹, Alfaro-Fernández, A.¹, Ferrándiz, J. C.², Sanjuán, S.², Hermoso de Mendoza, A.³, Font, M.I.¹

¹ Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cno. Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: mafonsa@upvnet.upv.es

² Agrícola Villena Coop. V., Crta. del Puerto s/n, 03400-Villena (Alicante).

³ IVIA, Carretera Moncada - Nàquera, Km. 4,5 , 46113 Moncada (Valencia)

Durante 2008, se empezó a observar en los cultivos de apio (*Apium graveolens* L.) y chirivía (*Pastinaca sativa* L.) de Villena (Alicante) sintomatologías anómalas. Las plantas de apio afectadas presentaban falta de desarrollo, hojas con amarillos y deformaciones, así como tallos más delgados, retorcidos y excesiva brotación de los mismos. Los síntomas en chirivía se correspondían también con amarillos, excesiva brotación de hojas, deformación de la raíz y proliferación de raicillas secundarias. Durante 2009, paralelamente a los trabajos de diagnóstico, se hizo un estudio para determinar los posibles insectos vectores de la enfermedad, se observaron elevadas poblaciones de psílidos (2/3) y cicadélidos (1/3) en los campos de apio y chirivía afectados. En una primera aproximación al diagnóstico, éste se encaminó hacia la determinación de la presencia de fitoplasmas, así como de los virus del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) y del mosaico del apio (*Celery mosaic virus*, CeMV). Los análisis de CeMV y CMV se realizaron empleando la técnica serológica DAS-ELISA con antisueros comerciales (LOEWE). Para la detección de fitoplasmas se empleó la técnica molecular Nested-PCR, con un posterior análisis de RFLP. Tras los análisis realizados, se identificaron como agentes implicados en el desarrollo de esta nueva sintomatología en apio al CeMV en infección simple o mixta con un fitoplasma del grupo Aster Yellows (16S rRNA grupo I). Por otro lado, en muestras sintomáticas de chirivía se identificó un fitoplasma del grupo XII Stolbur (16S rRNA grupo XII). El diagnóstico de estos agentes fitopatógenos sólo se pudo confirmar en un bajo porcentaje de las muestras sintomáticas analizadas, por lo que no se descarta la implicación de algún otro agente en el desarrollo de estas sintomatologías. La detección de los fitoplasmas Aster Yellows y Stolbur en apio y chirivía respectivamente, constituye la primera cita en estos cultivos en España.

PAN-135

**PRIMERA DETECCIÓN DE '*Candidatus Phytoplasma asteris*'
EN ARROZ EN ESPAÑA**

Cebrián, M.C., Villaescusa, F.J., Córdoba-Sellés, M.C., Alfaro-Fernández, A., Jordá, C., Font, M.I.

Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cno. Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: mafonsa@upvnet.upv.es

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los principales cereales de vital importancia para la alimentación humana a nivel mundial. En España, especialmente en la costa Mediterránea, es uno de los cultivos con mayor tradición por su gran relevancia a nivel gastronómico. Durante el año 2008, se muestrearon en la marjal de Pego-Oliva (Valencia) plantas de arroz que mostraban síntomas característicos de enfermedades producidas por fitoplasmas. El ADN total de las muestras sintomáticas y asintomáticas se analizó mediante la técnica molecular «nested-PCR» empleando cebadores universales del ADN ribosómico 16S (P1/P7 y R16F2n/R2). Los patrones obtenidos con los distintos enzimas de digestión empleados en los análisis RFLP indicaron la presencia de fitoplasmas del grupo 16Srl: Aster yellows. Para corroborar los resultados obtenidos por RFLP, se procedió a purificar y secuenciar uno de los productos de PCR de la segunda amplificación de la «nested-PCR». La secuencia obtenida mostró un 99% de identidad nucleotídica con secuencias depositadas en el GenBank de miembros del grupo 16Srl: Aster yellows, actualmente considerados como '*Candidatus phytoplasmas asteris*'. Según nuestro conocimiento, este resultado constituiría la primera cita de '*Ca. P. asteris*' en cultivo de arroz en España.

PAN-136

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE VIROSIS EN LOS CULTIVOS DE TOMATE DEL SURESTE PENINSULAR ESPAÑOL

Juárez, M.¹, Agulló D.¹, Font, M.I.², Córdoba-Sellés, M.C.², Cebrián, M.C.², Alfaro, A.O.² y Jordá, C.².

¹ Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. de Beniel km 3.2, 03312 Orihuela, Alicante

² Instituto Agroforestal Mediterraneo (IAM), Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. Email: miguel.juarez@umh.es

En el sureste peninsular de España existen varias comarcas donde tradicionalmente se ha cultivado tomate, destacando en la actualidad varias localidades importantes en Alicante (San Juan, Muchamiel, Rebolledo, Torrellano, Elche, Albuera y Orihuela) y en Murcia (Mazarrón, Lorca y Águilas). En los últimos años el principal factor limitante para la producción en este cultivo ha sido el desarrollo de enfermedades de tipo viral. El objetivo planteado en este trabajo ha sido detectar los virus que afectan a los cultivos de tomate en esta zona, y determinar su incidencia e importancia relativa. Para ello, se llevaron a cabo muestreos en 16 parcelas de este cultivo durante las campañas de 2007 y 2008, recogiendo un total de 1016 muestras. Parte de las muestras, procedentes de plantas con síntomas de tipo clorosis, amarillosos y falta de desarrollo, se analizaron en la modalidad «tissue print» empleando sondas de hibridación molecular para detectar la presencia del Virus del rizado amarillo (TYLCV-Sr y TYLCV-Ir), el Virus de la clorosis del tomate (ToCV), el Virus de la clorosis infecciosa del tomate (TICV) y el Virus del mosaico del pepino dulce (PepMV). Otras muestras que presentaban sintomatología tipo mosaico y/o necrosis, clorosis y falta de desarrollo, se analizaron mediante serología frente al Virus del mosaico del pepino (CMV), el Virus Y de la patata (PVY), el Virus del bronceado del tomate (TSWV), el Virus del mosaico de la alfalfa (AMV), el Virus del mosaico del tomate (ToMV) y PepMV. También se analizaron muestras mediante sondas de hibridación y en la modalidad «dot blot» procedentes de plantas con síntomas de tipo mosaicos y/o necrosis. Otras asintomáticas, frente al Virus del torrado del tomate (ToTV), PepMV y ToCV. El virus que más prevaleció en este muestreo fue ToCV para las muestras que presentaban síntomas de amarillosos, habiéndose detectado en todas las parcelas y durante las dos campañas. Para las muestras con síntomas de mosaicos predominaron las infecciones por PepMV, y en algunos casos en infecciones mixtas con CMV y AMV. En las muestras con síntomas de clorosis, rizado y enanismo se detectó mayoritariamente TYLCV-Ir y en algunos casos en infección mixta doble con TYLCV-Sr, PepMV y ToCV. En las muestras de necrosis se determinaron en unos casos TSWV en infecciones mixtas con PepMV, y en otros, PVY y PVY+AMV. El Virus del torrado del tomate (ToTV) fue detectado mayoritariamente en plantas con síntomas claros de necrosis característica y en algunos casos en plantas asintomáticas, a veces en infecciones mixtas con ToCV y PepMV. También se determinaron algunas infecciones mixtas triples, predominando las combinaciones (ToCV+PepMV+ToTV) y (ToCV+PepMV+TYLCV-Ir). Este trabajo ha sido subvencionado por el Ministerio de Educación y Ciencia en el Proyecto: AGL2005-06682-C03-03.

PAN-137

**PROSPECCIÓN DE ‘*Candidatus Liberibacter spp.*’,
CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD DE «Huanglongbing» EN CÍTRICOS**

Bertolini, E.¹, Arilla, A.¹, Cambra, M.¹, López, M.M.¹, Siverio, F.², Bové, J.³

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada-Náquera km 4.5. 46113 Moncada. Valencia

² Servicio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias. Carretera del Boquerón s/n, Valle de Guerra. 38270 La Laguna. Tenerife

³ Université de Bordeaux II e INRA, 71, Av. E. Bourlaux, 33883 Villenave d'Ornon (Francia)

«Huanglongbing» (HLB) está actualmente considerada como la enfermedad más grave de los cítricos y es causada por tres especies del mismo género: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus* y es transmitida por dos psilas, *Diaphorina citri* y *Trioza erytrae*.

La enfermedad no ha sido detectada en la Unión Europea, donde se considera al agente causal y a sus vectores como organismos de cuarentena. Sin embargo, hay que remarcar que *T. erytrae*, vector de *Ca. L. africanus*, se encuentra ya en varias islas de Canarias, donde se ha confirmado su presencia desde 2002, y esta situación hace que estas zonas sean especialmente vulnerables a la introducción fortuita de HLB que luego se dispersaría con relativa rapidez. Por ello, se realizó una prospección en plantaciones de cítricos de Tenerife para determinar la ausencia o presencia de HLB. Asimismo, se realizó una prospección en Huelva ante la existencia de síntomas sospechosos. Se inspeccionaron parcelas mediante observación visual con un total de más de 6.000 árboles visitados. Aunque en ningún caso se observó la sintomatología característica de HLB, se muestrearon hojas que presentaban algún síntoma que pudiera ser asociado con HLB. Las muestras se analizaron mediante extracción de ADN de los nervios centrales de las hojas con un método estándar de extracción con CTAB y amplificación mediante PCR a tiempo real con sonda TaqMan (Li *et al.*, 2006) capaz de amplificar cualquiera de las 3 especies de *Ca. Liberibacter*. En Tenerife, además, se analizaron 150 individuos de *T. erytrae* individualmente y en grupos de 5. Para el análisis de las psilas se realizó primero una extracción del ADN mediante dos protocolos diferentes y se analizaron como anteriormente. Todas las muestras analizadas resultaron negativas en la detección de *Ca. Liberibacter spp.*

En conclusión, la bacteria causante de la enfermedad de HLB no ha sido detectada en España, pero la elevada incidencia de *Trioza erytrae* observada en las islas Canarias hace imprescindible realizar prospecciones periódicas tanto en Tenerife como en las demás islas. En otras zonas cítricas españolas se deberían realizar prospecciones preventivas, no sólo de HLB sino también de sus especies vectoras.

PAN-138

**LA NECROSIS APICAL DEL MANGO EN CANARIAS,
¿UNA ETIOLOGÍA ALTERNATIVA?**

Gutiérrez-Barranquero, J.A.¹, Cazorla, F.M.¹, Arrebola, D.¹, Codina, J.C.¹, Fernández-Galván, D.², de Vicente, A.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento De Microbiología, Universidad de Málaga, Campus Teatinos, 29071 Málaga. E-mail: jagutierrez@uma.es

² Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Departamento de Fruticultura, 38270 La Laguna, Tenerife

La principal enfermedad bacteriana del cultivo del mango en la cuenca mediterránea es la Necrosis Apical del Mango (NAM), producida por la bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss), que limita la producción del cultivo del mango en el sur de España y Portugal. Con objeto de obtener una colección de aislados bacterianos de Pss de todas las zonas productoras de España, se llevaron a cabo prospecciones en cultivos de las Islas Canarias (principalmente en las islas de Tenerife y La Palma). En los árboles de mango de las fincas localizadas, se observó una sintomatología muy similar a la NAM, con manchas necróticas en las hojas y necrosis en los brotes apicales y ramas, aunque con la diferencia de que también aparecían zonas necróticas en panículas y frutos inmaduros. Tras cinco años de sucesivos muestreos (2005-2009), se aisló repetidamente un microorganismo asociado al tejido con síntomas, diferente a Pss, que solo aparecía de forma ocasional. La caracterización bioquímica, fenotípica y genética permitió su identificación como *Pantoea agglomerans* (Pa). Esta bacteria se puede encontrar normalmente asociada tanto a plantas como a animales. En el caso de estar asociado a plantas, podría encontrarse como comensal tanto epífita como endófito y muy raramente actuaría como patógeno. Con el objeto de clarificar si estas cepas de Pa son las causantes de los síntomas detectados, se están llevando a cabo los ensayos necesarios para completar los postulados de Koch. Además se está profundizando simultáneamente sobre la genética de esta bacteria y su capacidad de virulencia, realizando análisis de perfiles plasmídicos de los diferentes aislados, la detección de genes del sistema de secreción tipo III (que han sido descritos previamente en otras cepas de Pa patógenas), y el estudio del origen de los plásmidos a través del análisis de los orígenes de replicación de los mismos.

* Este trabajo ha sido financiado por fondos CICE-Junta de Andalucía, ayudas Grupo PAIDI AGR-169 e Incentivos a Proyecto de Excelencia (P07-AGR-02471), cofinanciado con fondos FEDER (EU).

PAN-139

PRESENCIA DE *Ewingella americana* EN CULTIVOS DE *Agaricus bisporus* Y *Pleurotus ostreatus* DE CASTILLA-LA MANCHA

González, A. J.¹; Fernández, A. M.¹; Navarro, M.J.²; Gea, F.J.²

¹ Laboratorio de Fitopatología. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anagf@serida.org

² Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del champiñón (CIES), 16220 Quintanar del Rey, Cuenca

Ewingella americana ocasiona necrosis interna del pie de los champiñones que comienza con un empardecimiento de la parte interna del tejido central del pie y se extiende desde la base del pie hasta el principio del sombrero, aunque raramente llega a penetrar en él. Los champiñones afectados pueden tener apariencia húmeda, aunque al cosecharlos se ve que el tejido de color pardo está seco y completamente colapsado, dejando un hueco central.

De las muestras de setas cultivadas con síntomas de bacteriosis analizadas en 2008, se aislaron bacterias gram negativas y fermentativas en una muestra de *Pleurotus ostreatus* y otra muestra de *Agaricus bisporus*. El perfil bioquímico de estas bacterias mostró que eran negativas para las pruebas de la oxidasa, arginina dihidrolasa y utilización como única fuente de carbono de sacarosa y adonitol; mientras que eran positivas en la hidrólisis de la esculina, el rojo de metilo y la utilización de lactosa como única fuente de carbono.

Para complementar la identificación, se amplificó y secuenció el ADNr 16S de dos aislamientos, uno de *P. ostreatus* y otro de *A. bisporus* (LPPA 1498 y LPPA 1509, respectivamente). Las secuencias obtenidas (1447 pb) se compararon con las depositadas en bases de datos obteniéndose un 99% de similitud con las correspondientes a la enterobacteria *Ewingella americana*. Ambas cepas se inocularon mediante inyección de 100 µl de una suspensión bacteriana de 10⁸ ufc/ml en el pie de la seta. Las inoculaciones se incubaron en cámara húmeda a 22 °C y se examinó la presencia de síntomas a los dos y siete días de la inoculación. Los testigos fueron inoculados con agua destilada estéril. Las dos cepas ensayadas produjeron lesiones marrones en los pies inoculados.

Por tanto, podemos decir que *E. americana* está presente en los cultivos de *P. ostreatus* y *A. bisporus* de Castilla-La Mancha. La enfermedad se suele asociar con un exceso de agua en el pie de los champiñones en un estadio inicial de su desarrollo, por lo que es importante mantener una buena evaporación de la superficie del cultivo en todo momento.

PAN-140

**BIOTA BACTERIANA EN SEMILLAS DE JUDÍA CONSERVADAS
EN EL CENTRO DE RECURSOS FITOGENÉTICOS (CRF-INIA)**

González, A. J.; Fernández, A. M.

Laboratorio de Fitopatología. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anagf@serida.org

La judía (*Phaseolus vulgaris* L) se ve afectada por varias especies bacterianas que pueden transmitirse por semilla y algunas permanecer largo tiempo viables en ellas. Para conocer la situación sanitaria de la semilla de judía conservada en el Centro de Recursos Fitogenéticos, se ha realizado un análisis bacteriológico de 16 muestras, de las cuales 14 tenían diferente poder germinativo después de un período de conservación de diez años, y dos eran muestras control. Su procedencia era diversa pues habían sido multiplicadas en Galicia (seis), Asturias (cinco), Andalucía (dos) y Madrid (dos). Los análisis se realizaron utilizando el método de remojo y aislamiento y la identificación se realizó amplificando el ADNr 16S de las bacterias aisladas y secuenciando una cadena.

En tres de las muestras (18%) se han encontrado bacterias fitopatógenas de la judía. En dos de ellas, procedentes de Galicia, se aisló *Curtobacterium flaccumfaciens* lo que supone una alta presencia de un patógeno grave. En la tercera muestra, multiplicada en Madrid, se aisló *Pseudomonas viridiflava* que es considerada, en la mayor parte de los casos, como un patógeno de debilidad. Es de destacar que se ha aislado también en una muestra de procedencia gallega *Clavibacter michiganensis*, bacteria fitopatógena no relacionada con la judía. El resto de las bacterias aisladas corresponderían a biota saprófita entre la que se encuentran bacterias de procedencia ambiental (*Moraxella* sp., *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp., *Frigoribacterium* sp., *Arthrobacter* sp., *Microbacterium* sp, *Novosphingobium* sp., *Paracoccus* sp., *Acinetobacter* sp.) y también algunas características de la piel (*Kocuria rosea*, *Staphylococcus warneri*), probablemente debido al manejo de las muestras.

Por tanto, podemos decir que la presencia de bacterias fitopatógenas en las muestras analizadas fue minoritaria desde el punto de vista cuantitativo, pero importante desde el cualitativo puesto que se pueden estar conservando semillas con graves patógenos potenciales. No se ha podido establecer una relación entre presencia de bacterias fitopatógenas y disminución de la germinación, aunque no se descarta que algunas bacterias saprofitas puedan actuar como alterantes de las semillas. Las muestras infectadas han sido retiradas de la colección y se realizarán ensayos con diferentes tratamientos para evaluar su utilidad en la eliminación de patógenos.

PAN-141

EL FITOPLASMA DE LA MARCHITEZ AMARILLA DE LA REMOLACHA AZUCARERA DE CHILE REPRESENTA UN NUEVO SUBGRUPO DEL GRUPO 16S rIII

Romero, J., Castro, S., Carazo, G.

Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña Km. 7,0 28040-Madrid. E-mail: romero@inia.es

La marchitez amarilla de la remolacha azucarera (SBYW) es una enfermedad endémica en Chile y es la enfermedad más importante de este cultivo en el Valle Central. Los síntomas incluyen amarilleos, enrollamiento de las hojas llamado «capucha de monje», proliferación de brotes, necrosis de la raíz y muerte de la planta. La secuencia del gen 16S rRNA única de los fitoplasmas fueron detectadas en todas los DNAs extraídos de plantas con síntomas, provenientes de diversas localizaciones del Valle Central de Chile, relevando una directa asociación entre una infección por fitoplasmas y la enfermedad de la marchitez amarilla. Igualmente las mismas secuencias de fitoplasmas fueron encontradas en el cicadélido *Paratanus exitiosus* (Beamer, vector de esta enfermedad. Análisis filogenéticos de las secuencias del gen 16SrRNA del SBYW fitoplasma y de fitoplasmas de los diversos grupos 16S r, indicaron que el fitoplasma en estudio pertenece al Grupo 16S rIII, cuyo miembro tipo es el propuesto '*Candidatus Phytoplasma pruni*'. Análisis de similitud de secuencias en un alineamiento de las secuencias del gen 16S rRNA de diversos fitoplasmas del grupo 16S rIII reveló que el SBYW fitoplasma comparte el 98.74% de similitud de secuencia con el '*Candidatus Phytoplasma pruni*'. El patrón virtual de RFLP derivado del analizado fragmento del gen 16S rDNA F2nR2 es diferente de los patrones de referencia de todos los grupo y subgrupos 16S r establecidos. El patrón de referencia más similar corresponde al Grupo 16S rIII Subgrupo J (GenBank accession AF147706) con un coeficiente de similitud de 0.90, el cual es menor que 0.97 coeficiente que marca la diferenciación entre los fitoplasmas, estos datos indican que el SBYW fitoplasma representa a un nuevo Subgrupo dentro del Grupo 16S rIII.

PAN-142

**MANCHA BACTERIANA CAUSADA POR *Pseudomonas tolaasii*
Y *P. reactans* EN CULTIVOS DE *Pleurotus eryngii*
DE CASTILLA-LA MANCHA**

González, A. J.¹; Fernández, A. M.¹; Navarro, M.J.²; Gea, F.J.²

¹ Laboratorio de Fitopatología. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anagf@serida.org

² Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del champiñón (CIES), 16220 Quintanar del Rey, Cuenca

La seta de cardo (*Pleurotus eryngii*) se cultiva desde hace varios años en la comarca de La Manchuela (NE de la provincia de Albacete y SE de la de Cuenca), sobre sustratos esterilizados y su cultivo se encuentra seriamente amenazado por la mancha bacteriana.

Durante el año 2008, aproximadamente el 40% de los paquetes de sustrato esterilizado se vieron afectados por mancha bacteriana en Castilla-La Mancha. Ese año se tomaron muestras de cuerpos fructíferos afectados por la enfermedad en explotaciones de seta de cardo de La Manchuela para la realización de un análisis bacteriológico. A los aislamientos bacterianos obtenidos se les realizaron las pruebas: Gram, fluorescencia, test de oxidación/fermentación de la glucosa, y asimilación de diferentes compuestos como única fuente de carbono. También se aplicó el esquema LOPAT a aquellas bacterias Gram negativas, fluorescentes y oxidativas y la prueba de la línea blanca (WLIP, White Line Inducing Principle), utilizando las cepas LPPA 540 y LPPA 542 correspondientes a *Pseudomonas reactans* y *P. tolaasii*, respectivamente. Para confirmar la identificación bioquímica, se utilizó la amplificación y posterior secuenciación del ADNr 16S, comparando las secuencias obtenidas con las depositadas en bases de datos. La patogenicidad se ensayó con suspensiones bacterianas de 10⁸ ufc/ml inoculadas mediante picadura con palillos estériles en los sombreros de las setas, utilizando como control agua destilada estéril.

En la mayor parte de las muestras con síntomas de mancha bacteriana se obtuvieron aislamientos con un perfil LOPAT correspondiente al grupo Va (-+--+), que reproducían los síntomas en las inoculaciones artificiales y correspondían a *P. tolaasii* y *P. reactans*. Ambas bacterias se encontraban frecuentemente de forma simultánea en las muestras.

Por tanto, la mancha bacteriana en cultivos de *P. eryngii* de Castilla-La Mancha parece estar asociada a las bacterias *P. tolaasii* y *P. reactans*. Por el momento, no hay variedades comerciales de *P. eryngii* resistentes a la enfermedad, si bien algunos autores afirman que su severidad se ve influenciada significativamente por la variedad comercial utilizada.

PAN-143

**DETECCIÓN DE FITOPLASMAS DEL GRUPO 16Sr-X,
MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL Y PCR-NIDO**

Bech, J.¹, Torres, E.¹, Laviña, A.², Sabaté, J.², Batlle, A.²

¹ Laboratori de Sanitat Vegetal. DAR. Generalitat de Catalunya. 08040 Barcelona

² Dpt. Patología Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. IRTA. 08348 Cabrils, Barcelona

El método de detección de fitoplasmas más utilizado es la PCR-nido, usando cebadores universales y específicos del gen ribosómico 16S rDNA. Los métodos de PCR en los que se realizan varias etapas aumentan el riesgo de contaminaciones cruzadas y por tanto de falsos positivos. La PCR a tiempo real permite detectar cantidades muy pequeñas de amplificado, mediante la lectura directa de la fluorescencia producida en cada ciclo de la PCR. Esta técnica presenta la ventaja respecto a la PCR-nido de que evita las contaminaciones mencionadas anteriormente y por otro lado la lectura directa de los resultados acorta el tiempo del análisis. Otra ventaja es que permite cuantificar los productos amplificados. Para la realización de la PCR a tiempo real se pueden utilizar fundamentalmente dos procedimientos: la utilización de sondas TaqManTM y la tinción de la doble cadena de ADN con SYBR[®] green I. Tanto las sondas TaqManTM como la tinción con SYBR[®] green I se están aplicando con éxito para la detección y cuantificación de virus, bacterias, hongos y fitoplasmas.

En este trabajo se comparan los resultados obtenidos en la detección de los fitoplasmas *Ca.P.prunorum* y *Ca.P.pyri* en distintas variedades de ciruelo y peral, mediante la utilización de tres modalidades de PCR: 1. PCR-nido con cebadores P1/P7 en la primera etapa y fO1/rO1 en la segunda, 2. Real time-PCR mediante la tinción de la doble cadena de ADN con SYBR[®] green y los cebadores diseñados por Torres et al. 2006 y 3. Real time-PCR con sonda TaqMan con los cebadores y sondas citados en Hodgetts et al. 2009.

Los resultados obtenidos mostraron que la PCR-nido es más sensible que la Real time-PCR, cuando se utiliza tinción SYBR[®] green, ya que cuando se realiza la detección en muestras de portainjertos de *Prunus* infectados por el fitoplasma, mediante la técnica PCR-nido se detecta el fitoplasma en un porcentaje de árboles, que oscila entre el 50 y el 80%, mientras que con el segundo método el porcentaje de detección oscila entre el 0 y el 33%. Cuando la detección se realiza en árboles enfermos de ciruelo japonés (*Prunus salicina*), mediante PCR-nido se obtiene detección en un porcentaje de árboles enfermos, que oscila entre el 66 y el 100% y mediante Real time-PCR con tinción SYBR[®] green, el fitoplasma se detecta en un porcentaje de árboles que oscila entre el 40 y el 80%. Actualmente se están procesando los resultados obtenidos con Real time PCR, utilizando sonda TaqMan.

* Trabajo financiado con el proyecto INIA RTA09-075.

PAN-144

**PROSPECCIÓN DE HONGOS BASIDIOMICETOS QUE CAUSAN
PODREDUMBRE DE MADERA EN JARDINES Y ARBOLADO URBANO**

Pérez-Sierra, A., León, M., Martínez, O., De Luca, V., Armengol, J.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: aperesi@eaf.upv.es

La podredumbre de madera, causada principalmente por hongos basidiomicetos, constituye uno de los problemas más importantes en jardines y arbolado urbano. Afecta a muchas especies arbóreas debilitando la madera, incrementando la posibilidad de fallo mecánico o rotura y, en consecuencia, provocando inestabilidad en el árbol que puede suponer un riesgo, especialmente en situaciones de estrés por viento, tormentas, nieve, etc. Desde el año 2007 se ha realizado una prospección de la presencia de cuerpos fructíferos de basidiomicetos en arbolado urbano y jardines en la ciudad de Valencia. Los árboles muestreados eran referenciados y fotografiados. Posteriormente, se tomaban fragmentos de los cuerpos fructíferos para su identificación en el laboratorio. Las muestras se identificaron morfológicamente y se realizaron aislamientos en medio de cultivo MEAS. Para estudiar el patrón de crecimiento los cultivos se repicaron a PDA. Además, se amplificó y secuenció la región ITS del ADNr de todos los aislados obtenidos con los cebadores ITS1-ITS4F. Las secuencias fueron comparadas con secuencias depositadas en GenBank. Se procesaron un total de 149 muestras procedentes de 30 especies arbóreas diferentes y se identificaron 15 especies de hongos basidiomicetos distintos: *Agrocybe aegerita*, *Armillaria mellea*, *Fistulina hepatica*, *Fomes fomentarius*, *Fomitiporia mediterranea*, *Ganoderma adspersum*, *G. resinaceum*, *Inonotus hispidus*, *I. rickii*, *Laetiporus sulphureus*, *Meripilus giganteus*, *Oxyporus latemarginatus*, *Perenniporia fraxinea*, *Phellinus pomaceous*, y *Pleurotus ostreatus*. Estos resultados muestran la complejidad de esta problemática.

PAN-145

CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Cadophora luteo-olivacea* y *C. melinii* OBTENIDOS EN VIVEROS Y PLANTAS DE VID EN ESPAÑA

Gramaje, D.¹, Mostert, L.², Armengol, J.¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: jarmengo@eaf.upv.es

² Department of Plant Pathology, University of Stellenbosch, Private Bag X1, Stellenbosch 7602, South Africa. E-mail: Imost@sun.ac.za

En este trabajo se estudió la variabilidad fenotípica y molecular de una colección de 61 aislados españoles y 2 de referencia de las especies fúngicas *Cadophora luteo-olivacea* y *C. melinii*. Los aislados se obtuvieron de plantas de vid joven así como en diferentes fases del proceso de producción de planta injertada en viveros de vid: balsas de amerado, tijeras utilizadas para el desyemado de las estacas y máquinas de injertado. La morfología, pigmentación y el crecimiento de las colonias fueron evaluados en los medios de cultivo PDA, MEA y OA. Los principales caracteres morfológicos estudiados fueron aspecto y tamaño de conidióforos, fiálidas y conidios. Los datos fenotípicos obtenidos se analizaron mediante un análisis «cluster». La variabilidad genética fue estudiada mediante la secuenciación de las regiones ITS, beta-tubulina (BT) y factor de elongación (FE). El análisis fenotípico agrupó los aislados de *C. luteo-olivacea* en 4 grupos. Se observó muy poca variación genética (hasta 4 nucleótidos) entre los aislados de ambas especies y no se encontraron grupos significativos mediante el análisis filogenético de las regiones estudiadas. Posteriormente, se determinó la patogenicidad de 4 aislados de *C. luteo-olivacea* y un aislado de *C. melinii* representativos de la diversidad fenotípica encontrada. Los aislados se inocularon mediante inserción de discos de agar + micelio en varetas de un año de edad de 4 patrones diferentes: 140 Ruggeri, 161-49 Couderc, 1103 Paulsen y 110 Richter. Las plantas fueron incubadas en invernadero a 25-30 °C durante 14 semanas. Al final del experimento, se midió la necrosis del sistema vascular y el peso de la parte aérea. Los resultados mostraron que los aislados inoculados de la especie *C. luteo-olivacea* fueron significativamente más virulentos que el aislado de *C. melinii*, causando una mayor necrosis en el xilema y una mayor reducción del peso de la parte aérea. Estos resultados confirman el papel de *C. luteo-olivacea* como patógeno en viveros y plantas de vid joven en España.

PAN-146

**EFFECTO DE LA PRESENCIA DE DOBLES CADENAS DE ARN
EN LA VARIABILIDAD FENOTÍPICA Y LA PRODUCCIÓN DE PERITECIOS
DE *Monosporascus cannonballus***

Armengol, J.¹, Alaniz, S.², Vicent, A.³, Beltrán, R.⁴, Abad-Campos, P.¹, Pérez-Sierra, A.¹, García-Jiménez, J.¹, Ben Salem, I.⁵, Boughalleb, N.⁵

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022-Valencia

² Departamento de Protección Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, 12900-Montevideo, Uruguay

³ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) Ctra. Moncada-Náquera Km. 4,5, 46113-Moncada, Valencia

⁴ Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria-Centro de Ensayos de Valencia, C/ Joaquín Ballester 39, 46009 Valencia

⁵ Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem, Département des Sciences Biologiques et de la Protection des Plantes, 4042 Sousse, Túnez. E-mail: jarmengo@eaf.upv.es

Monosporascus cannonballus es un hongo ascomiceto del suelo, asociado al síndrome del colapso de cucurbitáceas en amplias zonas de cultivo en todo el mundo. Para este estudio se utilizaron 21 aislados de *M. cannonballus* obtenidos de raíces de melón y sandía con síntomas de la enfermedad en España y Túnez. Se realizaron experimentos para determinar el efecto de la temperatura (15, 20, 25, 30, 35 y 40 °C), pH (4, 5, 6, 7 y 8) y potencial osmótico (Ψ_o) (-0,5, -1, -2, -3, -4, -5 y -6 MPa, utilizando ClK y ClNa como solutos), sobre el crecimiento micelial y la formación de peritecios de los aislados. Además, a partir del micelio fúngico se realizó un proceso de extracción de fragmentos de dobles cadenas de ARN (dsRNA) mediante cromatografía de celulosa que fueron visualizados en geles de agarosa. En nueve de los aislados estudiados se encontraron fragmentos de dsRNA cuyos tamaños variaron desde 1,6 hasta 18 kb, presentando cada uno de ellos dos o más fragmentos de distinto tamaño. El análisis factorial multivariante de los datos fenotípicos agrupó a la mayoría de los aislados en dos grupos. El primero contenía once aislados en los que no se encontraron fragmentos de dsRNA. Éstos presentaban la capacidad de producción de peritecios en casi todas las condiciones de cultivo estudiadas y, en general, un mayor ratio de crecimiento en ClK en los valores de Ψ_o de -0,5, -1 y -2 Mega Pascales (MPa). Por el contrario en el segundo grupo, que contenía siete aislados en los que se determinó la presencia de fragmentos de dsRNA, no se observó la producción de peritecios en la mayoría de condiciones de crecimiento estudiadas y, en general, presentaron un menor ratio de crecimiento en ClK en los valores de Ψ_o de -0,5, -1 y -2 MPa. Los tres aislados restantes (dos de ellos con presencia de dsRNA) presentaron comportamientos variables con producción de peritecios sólo en determinadas condiciones de cultivo y una mayor tolerancia al crecimiento en medio con ClNa que el resto de aislados. Estos resultados muestran el efecto que la presencia de dsRNA tiene en la variabilidad fenotípica de aislados de *M. cannonballus*, especialmente sobre su capacidad reproductiva.

PAN-147

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Phytophthora* EN VIVEROS DE PLANTAS ORNAMENTALES

Mora Sala, B., Pérez-Sierra, A., León, M., García-Jiménez, J., Abad-Campos, P.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: aperesi@eaf.upv.es

Phytophthora es uno de los géneros de patógenos de plantas más destructivos a nivel mundial. Dada la problemática asociada a este género en los viveros de plantas ornamentales en otros países, se procedió a valorar la presencia de *Phytophthora* en viveros españoles. El estudio se realizó durante un año y se muestrearon plantas que presentaban alguno/s de los siguientes síntomas: clorosis, marchitez, seca de ramas, necrosis foliares, muerte de brotes, exudación de goma o muerte súbita. Se realizaron aislamientos de lesiones de las partes afectadas en medio selectivo CMA-PARPBH y de muestras de suelo utilizando manzanas como trampa vegetal. Las especies de *Phytophthora* aisladas se identificaron a nivel morfológico de acuerdo con su patrón de crecimiento en medio de cultivo PDA, características del micelio, y forma y dimensiones de esporangios, oogonios y anteridios. La identificación molecular se realizó mediante la amplificación y secuenciación de la región ITS del ADNr con los cebadores ITS4-ITS6. Las secuencias obtenidas se compararon con secuencias depositadas en GenBank. Se obtuvieron un total de 54 aislados de *Phytophthora* de 29 especies vegetales pertenecientes a 18 órdenes y a 23 familias botánicas. Se identificaron 9 especies de *Phytophthora*: *P. cactorum*, *P. cinnamomi*, *P. citricola*, *P. citrophthora*, *P. cryptogea*, *P. drechsleri*, *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. taxon niederhauserii*, y algunos aislados fueron clasificados dentro del complejo *P. citricola* y del complejo *P. cryptogea*. *P. nicotianae* fue la especie aislada con mayor frecuencia y en un mayor número de hospedantes. Los resultados muestran que la incidencia de *Phytophthora* en los viveros es elevada, especialmente en el sector de plantas ornamentales aromáticas.

PAN-148

LA PODREDUMBRE DE LA BASE DEL TALLO DEL CALABACÍN
CAUSADA POR *Phytophthora capsici*

Gómez, J.¹, Aguilar M.I.², Abad, Z.G.³ y Serrano, Y.¹

¹ IFAPA. Centro La Mojonera. Camino de San Nicolás n.º 1. 04745. La Mojonera, Almería

² Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal. Camino de San Nicolás n.º 1. 04745. La Mojonera, Almería

³ USDA-APHIS-PPQ. Molecular Diagnostics Laboratory. B-580, BARC-East. Powder Mill Rd. Beltsville, MD 20705. USA. E-mail: juliom.gomez@juntadeandalucia.es

El calabacín (*Cucurbita pepo*) es ampliamente cultivado en invernadero en el sureste de Andalucía. En 2008-09, plantas de diferentes cultivares en varios invernaderos comerciales mostraron síntomas de necrosis en la base del tallo, marchitez y muerte. Las plantas enfermas se encontraron distribuidas por líneas, en varios focos. *P. capsici*, *Pythium ultimum* y *P. irregulare* se aislaron de las plantas con síntomas usando PDA y P₅ARP. Se seleccionaron ocho cultivos puros que fueron identificados en base a sus características morfológicas y moleculares.

Se evaluó el poder patógeno de cinco aislados de *P. capsici* (PCI-211, PCI-221, PCI-611, PCI-612 y PCI-811), de dos de *P. ultimum* (PCI-621 y PCI-622) y de uno de *P. irregulare* (PCI-631), en dos experimentos de inoculación en invernadero. Semillas pregerminadas del cv. Consul se sembraron en contenedores de 1 L de capacidad rellenos con vermiculita. Las plantas se inocularon con 2-3 hojas verdaderas depositando el inóculo alrededor de la base del tallo. Con diseño en tres bloques completos al azar, las parcelas elementales estuvieron constituidas por cuatro plantas. Otras 12 plantas no inoculadas sirvieron como testigos.

Las plantas se mantuvieron hasta un mes después de la inoculación, realizando observaciones periódicas para valorar los síntomas mostrados. Los resultados fueron similares en ambos experimentos. Los primeros síntomas de marchitez se observaron a los cinco días de la inoculación, y al finalizar el experimento, entre el 80% y el 100% de las plantas inoculadas con PCI-211, PCI-611, PCI-612 y PCI-811, todos de *P. capsici*, habían muerto, mostrando lesiones en la base del tallo y raíz principal, pero no en las raíces secundarias. Las plantas inoculadas con los aislados PCI-221, PCI-621 y PCI-631 de *P. capsici*, *P. ultimum* y *P. irregulare*, respectivamente, y las no inoculadas permanecieron asintomáticas al finalizar los experimentos. *P. capsici* fue consistentemente reaislado de las plantas con síntomas.

Aunque es frecuente en los cultivos de pimiento de diferentes regiones españolas (Andrés, 2005), este es el primer registro de *P. capsici* como agente causal de enfermedad en cultivos de calabacín en los invernaderos del sureste.

PAN-149

**UTILIZACIÓN DE CARACTERES MORFOLÓGICOS
Y TÉCNICAS MOLECULARES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE
*Stemphylium vesicarium***

Puig, M., Ruz, L., Moragrega, C., Montesinos, E., Llorente, I.

Institut de Tecnologia Agroalimentària-CIDSAV-XaRTA, Universitat de Girona.
Campus de Montilivi s/n 17071. Girona. E-mail: isidre.llorente@udg.edu

Stemphylium vesicarium es un hongo causante de la mancha marrón o Estemfiliosis en peral y en especies hortícolas entre las que se encuentran el espárrago, ajo o cebolla. En peral la enfermedad ha sido descrita en las principales zonas de producción, con infecciones principalmente en hojas y frutos que provocan importantes pérdidas de producción.

El conocimiento de las fuentes y el potencial de inóculo del patógeno resulta imprescindible para diseñar estrategias eficientes de control integrado de la enfermedad. En la estemfiliosis del peral el seguimiento del inóculo del patógeno se realiza mediante captura aérea de las esporas en las plantaciones y su identificación en base a caracteres morfológicos. Los caracteres morfológicos que permiten diferenciar especies del género *Stemphylium* han sido descritos en la literatura. Sin embargo, algunas especies afines que coexisten con *S. vesicarium* en las plantaciones de peral producen conidias similares y son muy próximas taxonómicamente, pudiendo dificultar su correcta identificación. El desarrollo y utilización de técnicas moleculares para la identificación de *S. vesicarium* contribuiría a mejorar la detección y estudio del inóculo del patógeno en las plantaciones.

En el trabajo que se presenta se ha realizado una caracterización morfológica de 40 aislados del género *Stemphylium* procedentes de plantaciones de peral y se ha determinado su homología a partir de la secuenciación de las regiones ITS del gen *18S rRNA* y del gen *gpd*. Se determinó si dichas secuencias permiten la diferenciación de especies dentro del género y se compararon los resultados obtenidos con la identificación a partir de los caracteres morfológicos.

Se observó que las características morfológicas de las conidias (principalmente relación longitud/anchura) permiten diferenciar especies de *Stemphylium* y distinguir *S. vesicarium* de otras especies próximas como *S. botryosum*. Las técnicas moleculares permitieron diferenciar las especies de *Stemphylium*. Además, la secuencia del gen *gpd* aportó información sobre la variabilidad genética entre cepas de *Stemphylium vesicarium*, pudiendo ser utilizada en estudios filogenéticos.

* Este trabajo ha sido realizado en el marco de los proyectos AGL2006-04987/AGR y AGL2009-09829.

PAN-150

PATOGENICIDAD DE *Pythium spiculum* EN *Quercus suber*

De Vita, P.¹, Serrano, M.S.¹, Callier, P.¹, Ramo, C.², Trapero, A.¹ y Sánchez, M.E.^{1*}

¹ Dep. Agronomía, Patología Agroforestal, Universidad de Córdoba, Apdo. 3048, 14080 Córdoba. ² Estación Biológica de Doñana.(CSIC). Avda. Américo Vespucio s/n, 41092 Sevilla. *E-mail: ag1sahem@uco.es

Las especies del género *Quercus* están sufriendo un grave decaimiento en el sur de España y Portugal desde principios de los años 90. *Phytophthora cinnamomi* fue el primer oomiceto descrito como patógeno radical de encinas y alcornoques y se ha considerado como el principal factor de decaimiento en la zona. Posteriormente se aisló otro oomiceto, *Pythium. spiculum*, a partir de raíces y rizosfera de *Q. ilex ballota* y *Q. suber* con síntomas de podredumbre radical no asociados a infecciones por *P. cinnamomi*. Las inoculaciones artificiales que se llevaron a cabo en plántulas de encina mostraron que *Py. spiculum* también es un patógeno agresivo de esta especie, que debe ser tenido en cuenta como factor de decaimiento, si bien su virulencia en encina resultó menor que la mostrada por *P. cinnamomi*. En prospecciones masivas llevadas a cabo desde 2003, ambos oomicetos se han aislado con frecuencias similares a partir de raíces y rizosfera de *Q. ilex ballota* y *Q. suber* en más de 100 dehesas y montes en todo el sur peninsular, pero quedaba por demostrar la patogenicidad de *Py. spiculum* en alcornoque y su papel en el decaimiento de esta especie.

En este trabajo se han realizado inoculaciones artificiales con cuatro aislados de *Py. spiculum* (dos procedentes de alcornoque y dos de encina) y un aislado de *P. cinnamomi* en plantones de 4 años de *Q. suber*, en condiciones de temperatura controlada y bajo encharcamiento periódico del sustrato. La evaluación de la severidad de síntomas foliares y radicales al término del experimento mostró que *Py. spiculum* también es un patógeno agresivo en *Q. suber*. Con la excepción de uno de los aislados provenientes de encina, los otros tres aislados de *Py. spiculum* resultaron tan virulentos en alcornoque como *P. cinnamomi*, al contrario de lo que se observó previamente para la encina. Por lo tanto, *Py. spiculum* debe ser considerado, junto con *P.cinnamomi*, como un factor activo de decaimiento de *Q. suber* en el sur de España y Portugal.

PAN-151

LA MALFORMACIÓN DEL MANGO EN LA AXARQUÍA; ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

Crespo-Palomo, M.¹, Cazorla, F.M.¹, Hermoso, J.M.², Guirado, E.², Gutiérrez-Barranquero, J.A.¹, Torés, J.A.², de Vicente, A.¹

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), ¹ Departamento. de Microbiología, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos s/n, 29071, Málaga. ²E.E. «La Mayora» (CSIC), 29750 Algarrobo Costa, Málaga

Una de las enfermedades más destructivas y con mayor distribución mundial que afectan al mango es la malformación. Esta enfermedad, aunque no mata al árbol, afecta a brotes vegetativos y florales, los cuales muestran reducción de los entrenudos con hojas pequeñas y enrolladas, y exceso de ramificaciones y acortamiento de los ejes respectivamente; impidiéndose el desarrollo normal de la panícula floral con la consecuente pérdida del fruto.

La malformación fue descrita por primera vez en la India hace más de un siglo, pero todavía ciertos aspectos sobre la dinámica de infección y el número de especies implicadas están por resolver. Hasta el momento al menos cuatro especies del género *Fusarium* han sido asociadas con la malformación: *F. mangiferae*, *F. sterilihyphosum*, *F. proliferatum* y una cuarta especie desconocida. La identificación de estas especies de hongos se ha basado en características morfológicas, culturales y moleculares.

Desde el 2006 se han observado esporádicamente árboles con síntomas de esta enfermedad en plantaciones de mango del sur de la península, concretamente en la Axarquía malagueña. Desde el año 2009 se están llevando a cabo prospecciones de las fincas con síntomas de malformación. El aislamiento y el cultivo en PDA y FCLA del hongo, el estudio morfológico de estructuras de reproducción asexual, así como la utilización de cebadores específicos para *F. mangiferae* que amplifican un fragmento de 608 pb, han sido utilizados para confirmar en plantas de mango con síntomas la presencia de este hongo, junto con al menos otra especie de *Fusarium* aún por determinar. La realización de los postulados de Koch se hace necesaria para determinar la patogenicidad de esta especie o especies de *Fusarium* asociadas a la malformación.

* Este proyecto ha sido financiado por ayudas CICE-Junta de Andalucía, Proyecto de Excelencia P07-AGR-02471. También cofinanciados por fondos FEDER (EU); y SAT-2803 TROPS.

PAN-152

DETECCIÓN DE *Fusarium oxysporum* COMO CAUSANTE DE LA MARCHITEZ VASCULAR EN DIPLADENIA (*Mandevilla sanderi*)

Raya, M.C., López Reina M.C., Azpilicueta A.

Laboratorio de Fitopatología. Newbiotechnic S.A. Parque Industrial A49 (PIBO). 41110 Bollullos de la Mltación. Sevilla

Desde el año 2007 el Laboratorio de Fitopatología de Newbiotechnic S.A. ha estado recibiendo de diferentes viveros, muestras de plantas de Dipladenia (*Mandevilla sanderi*) afectadas por marchitez vascular.

Los síntomas iniciales de la enfermedad comienzan en las hojas con una necrosis internervial que se extiende a lo largo del tallo y provoca la necrosis del ápice principal y posterior muerte de la planta. Aunque las raíces no presentan síntomas externos, muestran decoloración vascular interna.

El análisis de las plantas afectadas a partir de los tejidos vasculares permitió aislar cultivos prácticamente puros de *Fusarium* en todas las plantas analizadas.

La patogenicidad de los aislados en Dipladenia se demostró mediante inoculaciones artificiales de plantas con una suspensión de conidios del hongo aplicados al sistema radical. Las plantas se incubaron en una cámara de crecimiento a 25 °C con un fotoperiodo de 10/14h luz/oscuridad y un 60-90% de humedad relativa. Los primeros síntomas de la enfermedad se manifestaron a los 18 días de la inoculación y afectaron al 100% de las plantas inoculadas. El hongo se reaisló con éxito de las plantas afectadas.

Sobre la base de las características morfológicas, el hongo se identificó como *Fusarium oxysporum*. Para confirmar la identificación del patógeno, se amplificó el ADN ribosomal utilizando los primers ITS1 y ITS4. La secuencia obtenida presentó un 100% de similitud a la secuencia de *Fusarium oxysporum* publicada en la base de datos GenBank.

PAN-153

**FILOGENIA MOLECULAR DE ASCOMICETES DE LA FAMILIA
Ophiostomataceae ASOCIADOS CON EL AZULADO DE *Pinus radiata* EN
ESPAÑA, CON LA DESCRIPCIÓN DE DOS NUEVAS ESPECIES
Y DOS NUEVAS COMBINACIONES**

Romón, P.¹, Zhou, Z.D.², De Beer, Z.W.², Goldarazena, A.¹, Wingfield, M.J.²

¹ NEIKER-TECNALIA, Basque Institute of Agricultural Research and Development, Arkaute Centre, Department of Plant Production and Protection, 46-01080 Vitoria, Spain. E-mail: promon@neiker.net; agoldarazena@neiker.net

² FABI, Forestry and Agricultural Biotechnology Institute, DST/NRF Excellence Centre in Tree Health Biotechnology (CTHB), Department of Microbiology and Plant Pathology, University of Pretoria, 002, Pretoria, South Africa.

La adaptación a la dispersión por insectos (ascomas y conidiomas con esporas pegajosas) ha surgido frecuentemente en la evolución de los ascomicetes, y esta convergencia evolutiva ha confundido su taxonomía.

Uno de los mejores ejemplos se encuentra en los hongos Ophiostomatoideos que representan géneros morfológicamente similares que comprenden dos grupos filogenéticamente no relacionados, uno incluyendo *Ophiostoma*, *Grosmannia* y *Ceratocystiopsis* en los Ophiostomatales, muy próximos a los Dothideales, y el otro incluyendo *Ceratocystis*, *Gondwanamyces* y *Cornuvesica* en el orden Microascales (Spatafora & Blackwell 1993).

En las coníferas, *Grosmannia clavigera* (Owen et al. 1987), *Leptographium terebrantis* (Parmeter et al. 1989), *Leptographium wageneri* sensu lato (Morrison & Hunt 1988), *Leptographium wingfieldii* (Lieutier et al. 1989), *Ophiostoma ips* (Raffa & Smalley 1988) y *Ophiostoma minus* (Yamaoka et al. 1990) son patógenos importantes. Otras especies son saprofíticas pero incluyen algunos agentes causales del azulado de la madera como *Ophiostoma canum*, *O. ips*, *O. minus*, *O. piceae*, *O. piliferum* y *O. pluriannulatum* (Seifert 1993). El azulado causa pérdidas de las propiedades tecnológicas de la madera asignada a la industria del mueble y la construcción, con una reducción del 50% del precio final (Maderas Elorriaga, Vizcaya, de unos 180 €/m³ a 85 €/m³).

Romón et al. (2007) estudiaron la biodiversidad y la segregación ecológica espacio-temporal de hongos Ophiostomatales diferencialmente asociados con especies de insectos colonizando *P. radiata* en el norte de España. El presente estudio considera la identidad y relaciones filogenéticas de dos nuevas especies y combinaciones que surgen a partir del mencionado estudio de campo.

PAN-154

PRESENCIA DE VIRUS Y HONGOS PATÓGENOS DE LA MADERA DE LA VID EN MATERIAL DESTINADO A NUEVAS PLANTACIONES

Lerma, M. L.¹, Armengol, J.², García-Jiménez, J.², Gramaje, D.², Castillo, P.¹, Muñoz, R. M.¹

¹ Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete. Apdo. Correos 451. 02006 Albacete. E-mail: mll.itap@dipualba.es

² Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia

De acuerdo con la legislación española vigente, el material de multiplicación certificado debe estar exento de los virus GFLV, ArMV, GLRaV-1, GLRaV-3 y GFKV (este último sólo para patrones). Esta legislación no contempla muchos de los hongos que causan enfermedades de la madera.

En este trabajo se presentan los resultados del diagnóstico tanto de virosis como de hongos patógenos de la madera en lotes de plantas procedentes de vivero, a partir de las consultas del ITAP durante los años 2002 a 2008.

Se han analizado 91 lotes en total, compuesto cada uno de ellos de una o varias plantas injertadas. Las virosis se analizaron mediante la técnica ELISA-DAS para los siguientes virus: GFLV, GLRaV-1, GLRaV-3 y GFKV o ArMV. El aislamiento de los hongos se realizó en medio de cultivo Agar Extracto de Malta (MEA) suplementado con 0,5 g/L de cloramfenicol, a partir de la zona del injerto, y partes media y basal del patrón.

Se detectaron un 9,9% de lotes infectados por alguna virosis, entre los cuales GLRaV-3 fue el más frecuente (8,8%). En el 51,7% de los lotes se aisló algún hongo patógeno de la madera, siendo *Phaeomoniella chlamydospora* y *Cylindrocarpon* spp. los hongos detectados en mayor número de lotes (55,3% y 42,6% respectivamente), en su mayoría a partir de la parte basal del portainjerto.

Los datos relativos a variedad y patrón se incluyeron en el 54 y 47% de los lotes, respectivamente. La variedad más frecuente fue Syrah con 18 lotes, de los cuales 11 presentaban infección por hongos y únicamente 1 lote se encontraba infectado por virus. En cuanto al patrón, SO4 fue el más numeroso con 12 lotes, 7 de los cuales presentaban algún hongo de la madera, mientras que 1 lote fue positivo para virosis.

En total se detectaron 7 lotes infectados tanto por virus como por hongos patógenos (7,7%); todos ellos presentaron el GLRaV-3, *Phaeomoniella chlamydospora* se aisló en 5 lotes y en 4 se detectó *Cylindrocarpon* spp.

En función de los resultados obtenidos, la presencia de hongos patógenos de la madera es significativamente superior a la de las virosis en el material destinado a nuevas plantaciones, el cual puede ser una fuente de diseminación de estos patógenos de la vid.

PAN-155

**ACERCA DE LA VARIABILIDAD DE AISLADOS ESPAÑOLES
DE *Phaeomoniella chlamydospora*, AGENTE ETIOLÓGICO
DE LA ENFERMEDAD DE PETRI EN VID**

González, V.¹, Tello, M. L.¹

¹Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Agroalimentario (IMIDRA-Comunidad de Madrid) Autovía A-2, Km. 38,2. Código Postal 28800, Alcalá de Henares, Madrid. E-mail: vicente.gonzalez.garcia@madrid.org

La denominada enfermedad de Petri es una de las patologías de madera de vid con mayor incidencia y extensión en la actualidad, siendo responsable del decaimiento de plantas jóvenes en numerosas áreas productoras mundiales. Uno de los agentes etiológicos de esta patología es *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & Mugnai) Crous & W. Gams, hongo perteneciente al extenso grupo de ascomicetos mitospóricos, productores de estructuras de reproducción asexual formadas directamente sobre el micelio vegetativo, sin diferenciación de estructura conidiogénica alguna (picnidios o acérvulos). Además de los estudios realizados en la última década sobre la epidemiología o la incidencia de este patógeno, han sido también numerosos los trabajos sobre la caracterización de la variabilidad genética de dicho taxón, aunque los resultados obtenidos sugieren una baja variabilidad genética para la especie. No obstante, son escasos los estudios centrados en la caracterización de aislados mediante el manejo de otro tipo de datos. La presente comunicación está basada en la caracterización y diferenciación de una colección de aislados españoles de *P. chlamydospora* mediante la integración e interpretación de datos provenientes de estudios morfológicos, patogénicos, citológicos o autoecológicos. Los resultados obtenidos muestran una correlación entre el alto grado de polimorfismo fenotípico observado en la citada colección (con la existencia de formas melanizadas, intermedias y totalmente albinas) y la caracterización y reconocimiento de diferentes grupos basados en criterios tales como la condición nuclear, virulencia o capacidad de supervivencia en suelos naturales. Así, se ha constatado la existencia de formas no melanizadas de la especie asociadas a aislados poco virulentos generalmente mono- o binucleados que presentan poca capacidad de supervivencia al ser inoculados en suelos naturales provenientes de viñedos. La posibilidad de contar con criterios alternativos aceptables para el reconocimiento de diferentes formas para este tipo de patógenos podría facilitar la localización de aislados hipovirulentos o no patógenos dentro de la especie, o contribuir al conocimiento de la biología de este hongo, en especial en lo referente a su dispersión y el tipo de rango ecológico que ocupa en relación al cultivo de la vid.

* El trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA2007-00023-C04-00 y el programa de Fondos FEDER.

PAN-156

**DISEÑO DE CEBADORES ESPECÍFICOS
PARA LA DETECCIÓN DE *Diplodia seriata* A PARTIR DE SCAR**

Martín, M.T., Cuesta, M.J., Martín, L.

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León - Zamadueñas, Ctra. de Burgos
Km 119, 47071 Valladolid, ESPAÑA

El objetivo de este estudio es desarrollar un método de identificación específico y sensible para *Diplodia seriata*, una de las especies asociadas a los decaimientos de la vid. Los patrones de RAPD (random amplified polymorphic DNA fragment) obtenidos con los aislados de esta especie permitieron seleccionar una banda común de unos 1200bp. Esta banda fue clonada y secuenciada a partir de varios aislados identificados como *D. seriata* procedentes de distintos lugares. Las secuencias clonadas se compararon y se utilizaron para el diseño de cebadores. Se ensayó la especificidad de los cebadores diseñados frente a aislados de *D. seriata* y otras especies asociadas a los decaimientos de la vid. Finalmente se seleccionaron los siguientes cinco pares de cebadores: 1) DS38S3/DS38R6, amplifican un fragmento de 634bp, 2) DS38S3/DS38R4, amplifican un fragmento de 233bp, 3) DS45S1/DS45R2, amplifican un fragmento de 1174bp, 4) DS45S3/DS45R2, amplifican un fragmento de 588bp y 5) DS45S3/DS45R4, amplifican un fragmento de 301bp. La sensibilidad de la reacción varía en función de los cebadores, en cualquier caso es superior a 0,1ng/ μ l y llega a 0,01pg/ μ l.

PAN-157

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DEL DECAIMIENTO DE LA MADERA DEL OLIVO EN CALIFORNIA

Úrbez-Torres, J. R., Peduto, F., Gubler, W. D.

Plant Pathology Department, University of California Davis, CA 95616, USA.
E-mail: jurbez@ucdavis.edu

California, con aproximadamente 25.000 ha cultivadas, es el principal productor de aceituna de mesa y aceite de oliva de los Estados Unidos de América. Actualmente, la producción tanto de aceituna de mesa como de aceite de oliva supone unos ingresos netos al estado de California superiores a los 90 millones de dólares. Este dato, unido al reciente incremento en la superficie de plantación, están convirtiendo al olivo en uno de los cultivos más atractivos y emergentes en el estado de California. Sin embargo, recientemente se ha incrementado la preocupación por parte de los agricultores californianos en las pérdidas económicas ocasionadas en el cultivo del olivo debido a los decaimientos de la madera. Los síntomas de este decaimiento se caracterizan por la formación de canchales (principalmente en forma de V) en la madera de ramas y troncos con el consiguiente decaimiento foliar y pérdida de producción. Consecuentemente, el objetivo de este estudio es determinar la importancia del decaimiento de la madera del olivo en California identificando y caracterizando sus agentes causales. Para ello, más de 700 muestras procedentes de 60 olivares fueron recogidas en diversos muestreos realizados a lo largo de todas las zonas de producción en California. Los síntomas de la enfermedad fueron observados en todos los olivares con edades superiores a los 15 años. El aislamiento de las muestras recogidas seguido de estudios morfológicos y filogenéticos de tres regiones (ITS1-5.8S-ITS2, BT2, EF1) nos permitió identificar y caracterizar 16 especies fúngicas diferentes pertenecientes a las familias *Botryosphaeriaceae*, *Valsaceae*, *Diatrypaceae*, *Corioloriaceae*, y *Schizophyllaceae* asociadas a los canchales de la madera del olivo en California. Las especies pertenecientes a la familia *Botryosphaeriaceae* fueron las más comunes asociadas con los canchales de madera de olivo en California. Estudios de patogenicidad llevados a cabo en las variedades Sevillano y Manzanillo mostraron *Neofusicoccum mediterraneum* (*Botryosphaeriaceae*) como la especie más virulenta en olivo en California.

PAN-158

**LA NECROSIS FOLIAR DEL HINOJO CAUSADA
POR *Alternaria petroselini***

Bassimba, D.D.M.¹, Baixauli, C.², Vicent, A.³

¹ Becario de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID). Ministerio de Asuntos Exteriores y de Cooperación, Avda. de los Reyes Católicos, 4, 28040, Madrid

² Fundación Ruralcaja Valencia, Apdo. de Correos 194, Paiporta 46200, Valencia

³ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Apdo. Oficial, Moncada 46113, Valencia. E-mail: avicent@ivia.es

Desde hace unos años, en la Comunidad Valenciana se viene detectando la presencia de necrosis foliares en parcelas de producción comercial de hinojo (*Foeniculum vulgare*). Con el objetivo de determinar la posible etiología fúngica de esta afección, se tomaron muestras de plantas con síntomas para su análisis. Se seleccionaron fragmentos de las zonas necrosadas, que se desinfectaron superficialmente con una solución de hipoclorito. Una vez desinfectadas, se realizaron siembras de estas muestras en medio de cultivo PDAS. En los aislamientos se identificaron consistentemente hongos pertenecientes al género *Alternaria*. El análisis mediante secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal de varios de estos aislados los situó dentro de la especie *A. petroselini*. Las características morfológicas y culturales fueron también coincidentes con las descritas para esta especie. Se realizó una prueba de patogenicidad con plantas de hinojo cv. Giotto de aproximadamente 3 meses de edad. Se pulverizó una suspensión de conidios (10^3 conidios/mL) sobre las plantas, que se recubrieron inmediatamente con una bolsa plástica para mantener las condiciones de humedad. Los testigos se pulverizaron únicamente con agua destilada. Las plantas se incubaron en una cámara de cultivo durante 72 horas a 25 °C en oscuridad. Tras la incubación, se evaluó la severidad de los síntomas y se realizaron reaislamientos de las zonas sintomáticas. Las plantas inoculadas con *A. petroselini* desarrollaron el mismo tipo de necrosis observado en campo. No se detectó ningún tipo de síntoma en las plantas testigo. De las zonas sintomáticas se reaisló consistentemente *A. petroselini*. Como conclusión, se ha diagnosticado por primera vez en España la necrosis foliar del hinojo causada por *A. petroselini*. Esta especie está descrita en otros países afectando a hinojo, apio (*Apium graveolens*), perejil (*Petroselinum crispum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*).

PAN-159

**ESTUDIOS DE PATOGENICIDAD DE HONGOS DE MADERA
EN VARIEDADES DE ALMENDRO DE MALLORCA**

Nieto, A.^{1,3} Sastre-Conde I.^{2,3}, Moralejo, E.⁴, Olmo, D.^{1,3}

¹ Laboratorio de Sanidad Vegetal, Millora Agraria S.A, E-mail: _diegoolmo@gmail.com

² IRFAP, Millora Agraria S.A.

³ Conselleria d'agricultura i Pesca, Govern de les Illes Balears. C/ Eusebi Estada, n.º 145. 07009 Palma de Mallorca. Islas Baleares

⁴ IMEDEA (CSIC-UIB), C/ Miquel Marquès, 21. 07190 Esporles - Islas Baleares

Hongos de madera de la familia Botryosphaeriaceae, aislados de muestras de almendros que mostraban de manera generalizada decaimiento y muerte de ramas en una zona de unas 1000 ha al este de Mallorca (2008 y 2009), fueron inoculados en laboratorio con el objetivo principal de evaluar su patogenicidad y estudiar su papel sobre la sintomatología observada. Se utilizaron dos tipos de material vegetal de almendro, ramos de 1-2 cm diámetro y ramas secundarias de unos 5-10 cm de diámetro, de 9 variedades tradicionales y comerciales presentes en Mallorca. Los hongos estudiados fueron dos cepas de *Neofusicoccum parvum* y una de *Neofusicoccum luteum*, ambos aislados con mayor frecuencia, y *Diplodia corticola*, únicamente aislado en una muestra. El material inoculado se mantuvo a temperatura ambiente en el laboratorio. A los 15 días se tomaron medidas de la distancia del chancro a la herida. *Neofusicoccum parvum* significativamente produjo las lesiones más extensas (longitud media de 84 mm en ramos y 167 mm en ramas) sobre todas las variedades de almendro estudiadas, seguido de *N. luteum*, mientras que *D. corticola* únicamente causó lesiones ligeramente mayores que el grupo control (inoculado con PDA) en ramos. En todos los casos se procedió con éxito al reaislamiento de los hongos inoculados, cumpliéndose por tanto los postulados de Koch. Por otro lado, se observaron diferencias significativas en la respuesta de las distintas variedades de almendro sobre la virulencia de los hongos analizados, así como diferencias en el tamaño de las lesiones según el diámetro de la madera. El hecho de que algunas de las variedades de almendro mostraron cierta tolerancia abre una posible línea de investigación prometedora para el futuro. Antes de ello, no obstante, se necesitarían nuevos estudios sobre la etiología de esta nueva enfermedad de los almendros de Mallorca.

PAN-160

DIVERSIDAD DE *Pythium* Y *Phytophthora* EN ENCINARES DE MENORCA AFECTADOS POR *Lymantria dispar*

Moralejo, E.¹, Núñez-Vázquez, L.², Closa, S., Barceló, A., Descals, E.¹

¹ IMEDEA (CSIC-UIB), C/ Miquel Marquès, 21. 07190 Esporles - Islas Baleares

² Servei de Sanitat Forestal. Conselleria de Medi Ambient i Mobilitat, Govern Balear

El efecto a medio plazo del ataque de *Lymantria dispar* en el estado fitosanitario de los bosques de encinas (*Quercus ilex*) es objeto frecuente de debate en el entorno forestal. Si los episodios de ataque del lepidóptero son cortos (1-2 años) se considera que los daños producidos sobre el encinar son menores (i.e. tolerables), superándose éstos con rebrotes del follaje. Sin embargo, se cree que defoliaciones por encima del 50% durante varios años sucesivos pueden causar un importante debilitamiento fisiológico del árbol, que repercute en su estado fitosanitario posterior. Se ha observado que la principal consecuencia del ataque de *L. dispar* en encinas es la presencia de ramillos con muerte regresiva en los años siguientes. Estos síntomas coinciden con los también producidos por *B. stevensii*, por ataques de oomicetos en raicillas, por efecto de la sequía, o por la interacción de estos factores, por lo que se hace difícil discernir entre agentes causales. En un estudio sobre el estado fitosanitario de *Q. ilex* en Menorca, después del ataque continuado de *L. dispar* desde 2003, se ha observado que el grado de recuperación es desigual entre parcelas. Al investigar los hongos fitopatógenos asociados en 18 localidades se ha constatado la incidencia de *Botryosphaeria stevensii* y se ha descubierto una gran diversidad de *Pythium* y *Phytophthora* spp., entre los que se encuentra la primera cita de *P. psychrophila* para España. La detección de estos oomicetos se ha mostrado, sin embargo, difícil y variable por métodos estándar de aislamiento. Para evitar tales variaciones se han utilizado técnicas de pirosecuenciación de ADN genómico para determinar la presencia de *Pythium* y *Phytophthora* en muestras de suelo. La defoliación de las encinas incide en la cantidad de luz que entra en el sotobosque y en la temperatura del suelo, y aumenta el grado de saturación hídrica del suelo en otoño al disminuir la demanda por transpiración. Esta época del año coincide con el pico de precipitación en la isla, la formación de nuevas raicillas, y casualmente también coincide con la mayor actividad de *Phytophthoras* en el suelo del encinar. La clave para predecir si va a continuar el declive del encinar, o si por el contrario se podrá observar una recuperación, posiblemente resida en saber si ha habido algún cambio significativo en alguno de los factores bióticos o abióticos, aquí mencionados, respecto a la historia evolutiva del encinar en Menorca. Con los datos actuales no se puede hacer una prognosis.

PAN-161

**DAÑOS OCASIONADOS POR EL MIXOMICETO *Physarum compressum*
EN CULTIVOS DE SETA DE CHOPO (*Agrocybe aegerita*)**

Gea, F.J.¹, Martínez-Carrasco, A.¹, Lainez, M.C.², Navarro, M.J.¹

¹ Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del champiñón, Apdo. 63, 16220 Quintanar del Rey, Cuenca. E-mail: fjgea.cies@dipucuenca.es

² IES Amparo Sanz. 02001 Albacete

La producción comercial de seta de chocho es una actividad relativamente novedosa en la comarca de La Manchuela (NE de la provincia de Albacete y SE de Cuenca). Para su cultivo se utiliza un sustrato preparado a base de paja de cereales, al que se le aplica un proceso de fermentación aerobia y una pasteurización. Posteriormente, este sustrato se inocula con micelio de *A. aegerita* y se ensaca en sacos paralelepípedicos rodeados de plástico de color negro, con un peso de entre 14-16 kg, a los que se le practican de cinco a siete orificios por los que tendrá lugar la fructificación de los carpóforos.

Desde principios de 2008 hasta la fecha, se ha realizado el seguimiento de tres ciclos de cultivo de seta de chocho en los que se ha detectado la presencia de un hongo mixomiceto durante la etapa de cosecha. Los especímenes del mixomiceto se encontraron creciendo directamente sobre el plástico que envuelve el sustrato, bien en su fase de plasmodio o bien como esporocarpos, y también sobre el propio sustrato de cultivo y sobre los cuerpos fructíferos de *A. aegerita*. Este mixomiceto se ha identificado como *Physarum compressum* Alb. & Schwein.

La presencia de *P. compressum* ocasiona una pérdida de calidad de la seta de chocho, bien porque los esporocarpos se pueden manifestar sobre el píleo, o bien porque originan una pérdida de color del mismo, lo que no hace aconsejable su comercialización. La valoración de daños realizada en los ciclos de cultivo examinados ha constatado que entre el 6 y 65% de los paquetes de sustrato se ven afectados por la presencia de *P. compressum* durante la etapa de cosecha.

PAN-162

**PRESENCIA DE *Trichoderma pleurotum*
EN CULTIVOS DE SETAS (*Pleurotus ostreatus*)**

Gea, F.J.¹, Lainez, M.C.², Zied, D.C.³, Navarro, M.J.¹

¹ Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del champiñón, Apdo. 63, 16220 Quintanar del Rey, Cuenca. E-mail: fjgea.cies@dipucuenca.es

² IES Amparo Sanz. 02001 Albacete

³ Módulo de Cogumelos, Dpto. de Producción Vegetal (Defesa Fitossanitária). Faculdade de Ciências Agrônomicas. Universidade Estadual Paulista, FCA/UNESP. Botucatu-SP, Brasil

La producción comercial de setas (*Pleurotus ostreatus*) durante la campaña 2007-2008 ascendió a 15.628 toneladas, cifra que supone el 11,4% del total de hongos comestibles cultivados en España. La principal región productora de este hongo es Castilla-La Mancha (comarca de La Manchuela), con el 74% del total nacional.

En marzo de 2008 se detectó un ataque severo del hongo *Trichoderma* en explotaciones de setas situadas en la provincia de Albacete. Se tomaron muestras en sustratos de cultivo afectados, y se procedió a la identificación del hongo patógeno. Las características morfológicas y culturales del aislado estudiado resultaron coincidentes con las descritas para *Trichoderma pleurotum*. También se realizó una secuenciación después de la amplificación mediante PCR, de un aislado de *Trichoderma* obtenido de sustrato de cultivo de *P. ostreatus*. Se llevó a cabo un análisis de las secuencias ITS1 e ITS2 con la ayuda del programa *TrichOKey 2*. Las secuencias de ADN obtenidas también se compararon con las depositadas en bases de datos. Este aislado se identificó como *Trichoderma pleurotum* (Accession No. FJ418567).

Se realizaron dos ensayos de patogenicidad. En el primero de ellos, se valoró la patogenicidad del hongo mediante el rociado de varias cubetas que contenían 150 g de sustrato de cultivo de *Pleurotus*, con 5 ml de suspensión conidial (10⁶ conidios/ml de agua destilada estéril). Las cubetas control se rociaron con agua estéril. Las cubetas selladas con Parafilm® se colocaron en una cámara de cultivo a 25°C. Dieciocho días más tarde, *T. pleurotum* se recuperó en el 50% de las cubetas inoculadas. Los controles no manifestaron síntomas. En el segundo ensayo se rociaron bloques (3 kg) de sustrato de cultivo de *P. ostreatus* con 10 ml de la misma suspensión conidial. Los controles se rociaron con agua estéril. Los bloques cubiertos con polietileno se situaron en una cámara de cultivo a temperatura de incubación (25 °C). Dos semanas después, se aisló *T. pleurotum* en el 50% de los bloques inoculados. Los bloques control permanecieron sin mostrar ningún síntoma de la enfermedad.

PAN-163

**AGENTES CAUSALES Y FACTORES QUE PREDISPONEN
AL DECAIMIENTO DEL ESPÁRRAGO EN GAVÀ, BARCELONA**

El Bakali, M.A.¹, García-Figueres, F.², Monton, C.², Valero, J.¹, López, D.¹, Carazo, N.¹, Ornat, C.¹, Sorribas, F. J.¹

¹ DEAB, MATIII-UPC, Esteve Terrades 8, 08860 Castelldefels. E-mail: *francesc.xavier.sorribas@upc.edu*

² Laboratori de Sanitat Vegetal. DAR, Generalitat de Catalunya

El decaimiento del espárrago es una enfermedad que se manifiesta en todas las partes del mundo donde se cultiva ésta hortaliza. La enfermedad es causada por diversas especies de *Fusarium* que afectan raíces, rizomas y turiones, aunque existen diversos factores bióticos y abióticos que predisponen el desarrollo de la misma. Gavà, es el municipio donde se concentra la mayor superficie de cultivo de espárrago blanco en Cataluña, siendo un signo de identidad del municipio que conlleva la celebración de la «Fira de l'espàrrac» desde el año 1932. El objetivo del trabajo fue determinar los agentes causales del decaimiento del espárrago en Gavà y los factores condicionantes del mismo. Se tomaron muestras de suelo y material vegetal (raíces, rizomas y turiones) de zonas sintomáticas y asintomáticas de plantaciones que tenían entre < 1 a 10 años de edad. La incidencia de la enfermedad se estimó como porcentaje de superficie de cultivo que presentaba síntomas de decaimiento. Los hongos asociados a material vegetal sintomático y asintomático se aislaron en PDA. Se extrajeron nematodos fitoparásitos de las raíces y suelo mediante el embudo de Baermann, y se realizaron análisis físico-químicos para determinar los factores que pudieran influir en el desarrollo de la enfermedad. En total se procesaron 61 muestras. Se aislaron 238 hongos, 165 de muestras sintomáticas y 73 de muestras asintomáticas, pertenecientes a los géneros *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina* spp y *micelia sterilia*. Se están realizando pruebas de patogenicidad *in vitro* para certificar la capacidad patogénica o no de los aislados procedentes de muestras sintomáticas y asintomáticas, respectivamente. Se identificaron 4 géneros de nematodos fitoparásitos, de los cuales *Meloidogyne* fue el más frecuente. El porcentaje de sodio de cambio y la capacidad de intercambio catiónico fueron los factores abióticos que se relacionaban con la incidencia de la enfermedad.

PAN-164

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Cryphonectria parasitica* EN GALICIA MEDIANTE MICROSATÉLITES

Aguín, O., Montenegro, D., Mansilla, J.P.

Estación Fitopatológica do Areeiro. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra.
E-mail: olga.aguin@depo.es

Cryphonectria parasitica (Murrill) M.E. Barr es el hongo causante del cancro del castaño, una enfermedad que afecta gravemente a los castaños. En la actualidad el único sistema que se muestra eficaz en el control de esta enfermedad es la aplicación de cepas hipovirulentas. Estas cepas muestran una virulencia atenuada debido a la infección por un micovirus el cual se puede transmitir a las cepas no infectadas o virulentas confiriéndoles el fenotipo hipovirulento. En el éxito de esta transmisión influyen significativamente la variabilidad y la estructura genética de la población. Tradicionalmente la variabilidad genética de las poblaciones de *C. parasitica* se ha estudiado mediante la determinación del número de tipos de compatibilidad presentes. Sin embargo este sistema es limitado, ya que no permite realizar un análisis individualizado del genotipo y resulta muy laborioso cuando el número de muestras a tratar es elevado. En la actualidad el uso de marcadores basados en ADN de tipo microsatélite (SSR, simple sequence repeats) permite el estudio directo del genotipo y establecer la identidad y las relaciones entre los individuos de una población. Recientemente se han aislado 66 loci microsatélites que han sido utilizados con éxito en el estudio de la diversidad genética de poblaciones europeas y americanas de *C. parasitica*. Por eso el objetivo de este trabajo fue determinar esta diversidad en las poblaciones gallegas de *C. parasitica* mediante el estudio de 6 secuencias microsatélites. En total se estudiaron 610 aislados, 248 de Lugo y 362 de Ourense. Las secuencias microsatélites seleccionadas fueron descritas anteriormente por diferentes autores y se denominan: CpG3, CpG4, CpE4, CpE8, CpG14 y CpSI054. Los resultados preliminares del análisis de estos microsatélites sugieren que las poblaciones de *C. parasitica* de Galicia presentan poca variabilidad. Esto está en coincidencia con el reducido número de tipos de compatibilidad establecidos en las mismas. La baja diversidad detectada hasta el momento indica que las posibilidades de éxito del control del cancro con cepas hipovirulentas pueden ser elevadas.

PAN-165

**PROSPECCIÓN DE *Phytophthora* spp.
EN SUELOS DE FRONDOSAS DE LA PROVINCIA DE PONTEVEDRA**

Mansilla, J.P., Rial, C., Pintos, C., Aguin, O. y Redondo, V.

Estación Fitopatológica Do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la robleda s/n. 36153. Pontevedra. E- mail: cpintos@efa-dip.org

El género *Phytophthora* incluye un gran número de especies patógenas de plantas herbáceas, leñosas, así como de árboles forestales. La tinta del castaño, el decaimiento de la encina y alcornoque asociados con la presencia de *P. cinnamomi*, el síndrome conocido como «sudden oak death» causado por *P. ramorum* (incluido en la lista de alerta de la EPPO) en *Quercus* spp. y *Lithocarpus densiflorus*, y el decaimiento de los alisos europeos ocasionado por *P. alni*, son bien conocidos especialmente por su destructivo impacto en los ecosistemas forestales. En los últimos años, han sido descritas nuevas especies de *Phytophthora*, como *P. quercina* en *Q. robur*; *P. europaea* en *Quercus* spp.; *P. kernoviae* en *F. sylvatica* y *Quercus* spp.; *P. pseudosyringae* en *F. sylvatica*, *Q. robur*, *A. glutinosa* o *P. alni* en *A. glutinosa*, entre otras. La Estación Fitopatológica do Areeiro (EFA), detectó en los últimos años, entre otras, la presencia en Galicia de *P. ramorum* sobre *Rhododendron*, *Viburnum* y *Camellia*; *P. pseudosyringae* sobre castaño y recientemente *P. alni* subsp. *alni* en aliso, motivo por el cual, durante el periodo 2009-2010, se lleva a cabo una prospección en suelos de frondosas de la provincia de Pontevedra, con el fin de determinar las posibles especies de *Phytophthora* presentes. Para ello, se realizaron diversos muestreos en diferentes puntos de la provincia de Pontevedra, en donde se recogieron muestras de suelo de *Alnus glutinosa*, *Castanea sativa*, *Quercus robur* y *Quercus suber*. Para determinar la presencia de esporangios de *Phytophthora*, las muestras de suelo fueron analizadas siguiendo la técnica de capturas utilizando como trampas vegetales hojas de aguacate y roble. La identificación de los aislados se llevó a cabo mediante el análisis de las características morfológicas (tipo de micelio, presencia de clamidosporas, forma y tamaño de esporangios, presencia y tipo de órganos sexuales, etc) y moleculares.

Las especies de *Phytophthora* identificadas fueron: *P. cinnamomi*, *P. cryptogea*, *P. gonapodyides*, *P. undulata*, *P. citricola* y *P. inflata*. El mayor número de aislados de *Phytophthora* fue obtenido a partir de suelos de *A. glutinosa* y la especie más frecuente fue *P. cinnamomi*, aislada en las cuatro especies de frondosas muestreadas. Todas las especies identificadas en esta prospección han sido citadas asociadas a la rizosfera de árboles forestales, pero en el caso de *P. gonapodyides*, *P. undulata* y *P. inflata* no existen referencias anteriores de su presencia en España.

PAN-166

PROBLEMAS FITOPATOLÓGICOS EN *Buxus sempervirens* DE GALICIA

Mansilla, J.P., González-Penalta, B., Pintos, C., Pérez-Otero, R., Aguín, O., Rial, C. y Redondo, V.

Estación Fitopatológica do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra. E- mail: cpintos@efa-dip.org

El boj (*Buxus sempervirens*) es un arbusto ornamental muy distribuido en Galicia, en jardines de pazos y en parques de pueblos, de ahí la necesidad de conocer sus patologías, por cuestiones sanitarias y económicas.

Las muestras analizadas proceden de muestreos realizados por la Estación Fitopatológica do Areeiro (EFA) en parques y jardines de la comunidad gallega, y de aquellas recibidas directamente en la EFA procedentes de viveros y particulares. En total se han analizado 64 muestras.

El material recogido ha consistido en hojas y ramillos sintomáticos, raíz y sustrato, en el muestreo realizado por la EFA; y en el material disponible (plantas enteras o parte de ellas sintomáticas o no) en las recibidas.

Las hojas y ramillos se disponen en cámara húmeda para forzar el desarrollo fúngico; las muestras de raíz se siembran en medio V8 para la detección de *Phytophthora* spp; y los sustratos se analizan con el protocolo de capturas utilizando como trampas vegetales hojas jóvenes de aguacate.

Se han identificado los siguientes hongos: *Macrophoma candollei* y *Puccinia buxi* sólo en hojas; *Diplodia* sp., *Helminthosporium* sp., *Nectria* sp., *Pestalotia* sp., *Verticillium* sp. sólo en ramillos; *Alternaria* sp., *Cylindrocladium buxicola*, *Fusarium* spp., *Gliocladium* sp., *Phoma* sp., *Phomopsis* sp., *Trichothecium* sp., *Volutella buxi* en hojas y en ramillos. En la raíz se ha detectado *Fusarium solani* y *F. oxysporum*; y en el suelo *Phytophthora* sp. *Cylindrocladium buxicola* y *Volutella buxi*, ocasionan defoliación intensa en la planta; *C. buxicola*, *M. candollei* y *P. buxi*, producen manchas foliares. En el resto no se han podido asociar con un síntoma claro, pero en general las plantas presentan aspecto debilitado, poco vigoroso. Los hongos que aparecen con mayor frecuencia por orden decreciente son: *V. buxi*, *Fusarium* spp., *P. buxi*, *M. candollei*, *Phomopsis* sp., *Gliocladium* sp. y *Phoma* sp.,

En este año 2010 destaca el aumento de *Cylindrocladium buxicola*, (incluido en la lista de alerta de la EPPO hasta el año 2008) detectado por primera vez en España en Galicia en el año 2009 por la EFA, y que puede representar un problema importante en los viveros dado su fuerte carácter defoliador en épocas de humedad alta y temperaturas cálidas.

En cuanto a las plagas, en los últimos años se ha detectado mayor presencia de síntomas de ácaros tetraníquidos y de la cochinilla *Icerya purchasi*.

También se ha visto la presencia de algas en las hojas, y de dos géneros de musgos en ramillos y ramas: *Hypnum cupressiforme* y *Neckera complanata*.

PAN-167**PROSPECCIÓN DE *Phytophthora alni* EN ALISEDAS GALLEGAS**

Pintos, C., Mansilla, J.P., Rial, C., Aguín, O. y Redondo, V.

Estación Fitopatológica Do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la robleda s/n. 36153. Pontevedra. E- mail: cpintos@efa-dip.org

En verano de 2009, fruto de la colaboración entre la Estación Fitopatológica do Areeiro (EFA) y las Consellerías do Medio Rural y Medio Ambiente, Territorio e Infraestruturas de la Xunta de Galicia, se inició un muestreo en toda la comunidad autónoma gallega, para tratar de determinar el agente, o agentes causales del decaimiento y muerte de algunas alisedas (o de pies de *Alnus glutinosa* aislados), situados en la ribera de varios ríos gallegos. La prospección se centró en la posible identificación de hongos del género *Phytophthora*, y más concretamente de *Phytophthora alni*, debido a su reciente y primera identificación en España, llevada a cabo por la EFA, a partir de una muestra de aliso recibida en nuestro centro en julio de 2009, procedente de Ourense. La prospección se llevó a cabo en 148 alisedas, en cada una de las cuales se recogieron muestras de corteza, raíz y tierra de 4-5 árboles y muestras de agua de los ríos próximos a los árboles muestreados. La identificación de los aislados obtenidos se llevó a cabo por características morfológicas y moleculares. Para el análisis molecular se estudiaron diferentes regiones del ADN y se aplicaron primers específicos para la determinación de *P. alni* y sus subespecies.

Los resultados de las prospecciones efectuadas resultaron positivos para la presencia de *P. alni* en las cuatro provincias gallegas, y en 26 de los 148 puntos muestreados, identificándose, en todos los casos, la especie *P. alni* subsp. *alni*, tanto a partir de muestras de corteza como de raíz. Otras especies de *Phytophthora* identificadas fueron *P. citricola*, *P. gonapodyides*, *P. cinnamomi*, *P. undulata* y *P. cryptogea*. En todos los casos la identificación morfológica coincidió con la molecular.

Los aislados de *P. alni* presentaban colonias con crecimiento irregular y escaso micelio aéreo. La temperatura óptima de crecimiento se situaba en torno a los 23-25 °C. Los aislados eran homotáticos, con anteridios anfiginos y predominantemente de dos células. Presentaban oogonios ornamentados, en mayor o menor grado, y presencia de oosporas abortadas. Los esporangios eran elipsoides, no papilados y persistentes.

La patogenicidad de *P. alni* fue confirmada mediante la inoculación de diez plantas de *A. glutinosa*. Las plantas fueron incubadas a 24 °C y 90% de humedad relativa durante 30 días, tras los cuales se observaron necrosis que se extendían bidireccionalmente. *P. alni* subsp. *alni* fue reaislada a partir de tejido necrosado de la corteza de todas las plantas inoculadas.

PAN-168

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE NEMATODOS
LONGIDÓRIDOS EN VIÑEDOS DE ANDALUCÍA**

Gutiérrez-Gutiérrez, C., Palomares-Rius, J.E., Cantalapiedra-Navarrete, C., Landa, B.B. y Castillo, P.

Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Apdo. 4084, 14080 Córdoba. E-mail: pcastillo@ias.csic.es

Los longidóridos son nematodos con un estilete largo y delgado (odontostilo) mediante el cual algunas especies transmiten virus vegetales, y cuya morfología muy conservada dificulta su identificación basada en ésta. En este trabajo se investigó la presencia y distribución de nematodos longidóridos en viñedos de Andalucía, y su caracterizaron morfológica y molecular mediante marcadores moleculares del ADN ribosómico (región D2-D3 del gen 28S, 18S e ITS1) y su análisis filogenético. Las prospecciones se realizaron en 120 viñedos comerciales incluidos en las tres denominaciones de origen de mayor importancia y extensión en Andalucía [Condado de Huelva (CH), Jerez (Jz), y Montilla-Moriles (MM)].

Los estudios morfológicos permitieron identificar dos especies de *Longidorus* y nueve de *Xiphinema* en las tres denominaciones de origen, cuya frecuencia de infestación en orden decreciente fue: *X. pachtaicum* 90,8% (CH, Jz y MM), *X. index* 30,3% (CH, Jz y MM), *X. italiae* 13,2% (CH y MM), *L. magnus* 11,8% (Jz y MM), *X. hispidum* 7,9% (CH y MM), *X. lupini* 3,9% (CH), *L. alvegus* y *X. rivesi* 2,6% (CH y MM), y *X. adeno-hystherum* (CH), *X. nuragicum* (MM) y *X. turcicum* (MM) 1.3%. Las densidades de población oscilaron desde 1 hasta 235 nematodos/500 cm³ de suelo. Algunas de estas especies constituyen nuevas citas para la nematofauna en España: *L. alvegus*, *L. magnus*, *X. adeno-hystherum*, *X. hispidum* y *X. nuragicum*. *Xiphinema index* estuvo ampliamente distribuido en las tres denominaciones de origen y generalmente asociado con infecciones por el virus del entrenudo corto (*Grapevine Fanleaf Virus* o GFLV), mientras que *X. rivesi* (vector del *Tomato ringspot virus* o ToRSV) tuvo una distribución muy restringida en CH y MM, no detectándose en Jz, y en ningún caso se diagnosticaron plantas con infecciones por dicho virus. Los análisis filogenéticos de los genes de estudio han permitido determinar la filogenia de longidóridos y han resuelto la posición filogenética dentro de los longidóridos de especies que anteriormente no habían sido secuenciadas como: *L. alvegus*, *L. magnus*, *X. adeno-hystherum*, *X. hispidum*, *X. lupini*, *X. nuragicum* y *X. turcicum*.

* Investigaciones subvencionadas por: P06-AGR-01360 y AGL-2009-0695.

PAN-169

ESTRUCTURA GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE *Xiphinema pachtaicum* Y *X. index* BASADA EN ADN MITOCONDRIAL Y NUCLEAR

Palomares-Rius, J.E., Gutiérrez-Gutiérrez, C., Cantalapiedra-Navarrete, C., Landa, B.B.y Castillo, P.

Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Apdo. 4084, 14080 Córdoba. E-mail: palomaresje@ias.csic.es

La filogeografía y el conocimiento de la estructura genética de un agente fitopatógeno pueden ayudar a comprender los procesos de adaptación a los mecanismos defensivos de la planta huésped, la aparición de razas o variantes patogénicas, o el desarrollo de resistencia frente a productos fitosanitarios. En nematodos fitoparásitos, la variabilidad genética intra- e inter-poblacional, así como la transferencia de material genético entre poblaciones mediante dispersión o reproducción (flujo de genes) a diferentes escalas espaciales ha sido poco estudiada. Los nematodos longidóridos *Xiphinema pachtaicum* y *Xiphinema index* son dos de las especies del género *Xiphinema* más extendidas y frecuentes que co-infestan viñedo y otros cultivos y plantas de hábitats naturales en la Cuenca Mediterránea. Ambas especies se reproducen predominantemente mediante reproducción asexual (partenogénesis), pero excepcionalmente en ambas especies se produce reproducción sexual, pudiendo ser modelos adecuados para el estudio de la estructura genética de sus poblaciones.

El objetivo de este estudio fue determinar la estructura genética de *X. pachtaicum* y *X. index* basado en nueve y siete poblaciones, respectivamente, procedentes de la Península Ibérica y la isla de Cerdeña, usando un marcador mitocondrial (el gen de la subunidad citocromo c oxidasa o *COI*) y otro nuclear (la región D2-D3 del gen 28S rDNA). Los resultados mostraron escasa variabilidad en ambos genes y ambas especies; siendo más baja en *X. index* que en *X. pachtaicum* lo que podría estar relacionado con la posible introducción de la primera especie desde su centro de origen (Oriente Medio). Los Análisis Moleculares de la Varianza (AMOVA) mostraron un patrón similar entre ambas especies con diferencias significativas dentro y entre-localidades de la misma agrupación geográfica (Denominaciones de Origen vitivinícolas de Andalucía) pero no entre las diferentes agrupaciones geográficas estudiadas. La historia de las poblaciones mediante el análisis de clados anidados mostró un rango contiguo de expansión para *X. pachtaicum*, mientras que para *X. index* esta historia no es concluyente debido a la escasa variabilidad obtenida. Los resultados sugieren que la actividad humana probablemente haya tenido una gran influencia en la dispersión de estas especies en los cultivos dada su gran homogeneidad genética para los genes estudiados.

* Investigaciones subvencionadas por: P06-AGR-01360 y AGL2009-00695.

PAN-170

ESPECIES DE *Bursaphelenchus* DETECTADAS EN GALICIA

Abelleira, A., Picoaga, A., Aguín, O., Mansilla, J.P.

Estación Fitopatológica do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra. E-mail: adela.abelleira@depo.es

La detección del nematodo de cuarentena, *Bursaphelenchus xylophilus*, (Steiner et Buhner) Nickle en Portugal en 1999, ha motivado numerosos muestreos en todos los países europeos para determinar su posible presencia, lo que ha contribuido al conocimiento de la distribución del género *Bursaphelenchus* en toda Europa. En nuestra Comunidad, debido a su proximidad y a las importaciones de madera de pino que con este país se realizan, hemos llevado a cabo muestreos sistemáticos en masas de coníferas, sanas y decaídas, aserraderos e industrias de la madera.

En este trabajo se citan las especies de *Bursaphelenchus* identificadas durante los once años de estos muestreos en Galicia, donde hasta el momento no ha sido detectada *B. xylophilus*. La determinación de las especies ha sido morfológica y/o molecular dependiendo del número de individuos recogidos. Para la determinación morfológica, se han estudiado, entre otros, los caracteres significativos para este género como son: en los machos la forma de las espículas y en las hembras su estructura vulvar y la forma de la cola. El análisis molecular se ha realizado mediante PCR-RFLP y secuenciación.

Se han determinado, hasta la fecha, ocho especies: *B. mucronatus* Mamiya et Enda, *B. sexdentati* Rühm, *B. eggersi* Rühm, *B. hylobianum* (Korenchenko) Hunt, *B. pinasteri*, Baujard, *B. tusciae* Ambrogioni & Marinari-Palmisano, *B. antoniae* Penas, Metge, Mota & Valadas y *B. hildegardae* Braasch, Burgermeister, Schönfeld, Metge & Brandstetter siendo para estas dos últimas, su primera cita en España.

PAN-171

**VALIDACIÓN DE «TISSUE-PRINT» RT-PCR A TIEMPO REAL
PARA LA DETECCIÓN DE *Citrus tristeza virus*. COMPARACIÓN
CON INMUNOIMPRESIÓN-ELISA Y CÁLCULO DE PARÁMETROS
DE DIAGNÓSTICO**

Vidal, E.¹, Yokomi, R.K.², Moreno, A.³, Bertolini, E.¹, Pina, J.A.¹, Martínez, M.C.¹, Corrales, A.R.¹, Cambra, M.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada-Náquera km 5. 46113 Moncada, Valencia. E-mail: mcambra@ivia.es

² USDA, Agricultural Research Service, 9611 S. Riverbend Avenue, Parlier, CA 93648, EE.UU.

³ Departamento de Protección Vegetal. Instituto de Ciencias Agrarias. CCMA-CSIC. C/ Serrano 115. 28006, Madrid

El virus de la tristeza (CTV) es el virus más importante que afecta a los cítricos. Aunque la enfermedad está extendida por toda el área citrícola española, su tolerancia en viveros es cero para prevenir la dispersión a larga distancia de aislados agresivos que pudieran accidentalmente introducirse en viveros y para evitar que se comercialicen plantas infectadas injertadas sobre el patrón *C. macrophylla*. El uso de técnicas precisas de diagnóstico es fundamental para lograr estos objetivos. La creciente utilización de técnicas moleculares hace necesario validarlas para detección de CTV tras su comparación con técnicas «gold standard». Se ha comparado la técnica molecular «Tissue-print» RT-PCR a tiempo real con la técnica serológica Inmunoimpresión-ELISA. Para ello, se utilizaron 1.246 plantas de tres parcelas experimentales, dos de naranjos dulces adultos, situadas en Tulare (California, EEUU) y la tercera de plantas de vivero de *Citrus macrophylla*, situada en Moncada (Valencia). La concordancia entre ambas técnicas fue substancial con un índice kappa de Cohen de $0,76 \pm 0,03$. A su vez, para obtener los parámetros de diagnóstico, se analizaron de nuevo las plantas con análisis discordante y se realizaron pruebas biológicas mediante injerto en la planta indicadora lima mejicana. Se consideró como verdadero positivo al diagnóstico efectuado en toda planta que resultó positiva por al menos dos de las tres técnicas utilizadas (biológica, serológica o molecular). De esta forma, se calculó para la técnica Inmunoimpresión-ELISA una sensibilidad de 80,15%, una especificidad de 99,62% y unas razones de verosimilitud positiva y negativa de 216,42 y 0,20, respectivamente. Para «Tissue-print» RT-PCR a tiempo real se estimó una sensibilidad de 98,20%, una especificidad de 85,19% y unas razones de verosimilitud positiva y negativa de 6,63 y 0,02, respectivamente. Con ello, se puede considerar validada la técnica de detección de CTV «Tissue-print real-time RT-PCR» que proporciona análisis altamente fiables para descartar la presencia de CTV y se confirma la alta precisión de Inmunoimpresión-ELISA para detección rutinaria de CTV. Se discutirán las implicaciones de estos parámetros de diagnóstico estimados para detección de CTV tanto en árboles adultos como en plantas de vivero.

PAN-172

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL RNA2 DE UN AISLADO DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL ARABIS INFECTANDO VID EN ESPAÑA. DISEÑO DE UN MÉTODO MOLECULAR DE DIAGNÓSTICO

López-Fabuel, I.¹, Bertolini, E.¹, Rubio, L.¹, Legorburu, F.J.², Olmos, A.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada a Nàquera km 5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: aolmos@ivia.es

² NEIKER-Tecnalia, Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, E-01080 Vitoria/Gasteiz

El virus del mosaico del arabis (*Arabis mosaic virus*, ArMV) pertenece al género *Nepovirus*, es transmitido por el vector nematodo *Xiphinema diversicaudatum* y causa la degeneración infecciosa en vid. Principalmente distribuido por Europa Central, ha sido descrito por primera vez en España recientemente (Abelleira *et al.*, 2010). El genoma de ArMV está compuesto por dos RNAs de simple hebra y polaridad positiva que se encapsidan separadamente como partículas virales poliédricas. El RNA2 incluye el gen que codifica la proteína 2A, el gen que codifica la proteína de movimiento y el gen de la proteína de la cápsida. El tamaño de este RNA en los aislados descritos varía entre 3707 y 3852 nucleótidos. Con la finalidad de poder desarrollar herramientas moleculares que permitan la detección universal de esta especie viral incluyendo los aislados españoles, se determinó la secuencia nucleotídica del RNA2 del aislado DU-13 recolectado en una cepa de Tempranillo en la Rioja Alavesa. La identidad nucleotídica de este aislado con otros procedentes de Alemania, Francia, Dinamarca, Italia y Japón varió entre 73,0% y 88,7%. El gen de la proteína 2A fue el que presentó mayor diferencia con una identidad media de 76,3%, mientras que el gen de la proteína de movimiento y el de la cápsida presentaron una identidad de 85,7% y 85,8% respectivamente. La gran variabilidad observada en este virus podría dificultar la detección de algunos aislados virales, por lo que se diseñó un método molecular basado en PCR a tiempo real utilizando iniciadores y sondas TaqMan correspondientes a regiones conservadas del genoma. Este método ha permitido la detección universal de todos los aislados de ArMV con una gran sensibilidad.

PAN-173

PRIMERA DETECCIÓN EN ESPAÑA DE *Pineapple mealybug wilt virus* EN PIÑA TROPICAL

Espino, A.I., González, A.², Rúas, C.³, Botella, M.¹

¹ Laboratorio de Sanidad Vegetal. E-mail: aesppaz@gobiernodecanarias.org

² Servicio de Genómica de ULL

³ Gestión del Medio Rural

La piña tropical se introdujo en Canarias en el siglo XIX y el cultivo comercial se estableció en el último cuarto del siglo XX. A finales de la década de los 70, comienza un interés creciente en la isla del Hierro por sustituir la platanera por la piña tropical. Se extendió a otras islas como Tenerife, La Palma y Gran Canaria. La superficie actualmente cultivada en Canarias es alrededor de 130 hectáreas, destinada al mercado local.

En 1983 se detecta por primera vez en Canarias el *Dysmicoccus brevipes* sobre piña tropical y lo asociaron como agente causante de la enfermedad del «wilt» o marchitamiento de la piña de graves consecuencias para el desarrollo de la planta. Los síntomas se manifiestan con un enrojecimiento progresivo de las hojas más antiguas, seguido del abarquillamiento de los bordes del limbo hacia la cara inferior y encorvamiento del extremo hacia el suelo. Además hay una pérdida de turgencia y sequedad de la zona apical de la hoja (Carnero *et. al.*, 1983).

Pineapple mealybug wilt disease (PMWV), es miembro del género *Ampelovirus* familia *Cloterviridae*. Se considera una de las enfermedades más graves en la piña tropical a nivel mundial. Esta patología se describió por primera vez en Hawai en 1910 y es transmitida por cochinillas de las especies: *D. brevipes* y *D. neobrevipes*. También se transmite mediante esquejes. En Canarias la reproducción tradicional de la piña tropical es mediante esquejes seleccionados por los propios agricultores.

En este trabajo presentamos los resultados de nueve muestras recibidas en el Laboratorio de Sanidad Vegetal en el año 2009, procedentes de una explotación de piña tropical de la isla de La Palma, con los síntomas descritos anteriormente. El origen del material vegetal procedía del Hierro.

La detección de la enfermedad se realizó mediante RT-PCR en un solo paso, previa extracción de ARN del dilacerado de la piel de la base de la hoja. Se eligieron los cebadores específicos del PMWV que abarcaran diferentes asociaciones 1-2-3 y 5 (Gambley *et. al.* 2008).

Los productos de la PCR obtenidos revelan un fragmento de ADN de 400pb. Para confirmar dicho resultado se purificaron varios amplicones, y posteriormente fueron secuenciados en el Servicio de Genómica de la ULL. La secuencia obtenida se comparó con las presentes en la base de datos del GenBank observando una homología del 96% con PMWV (Accession number:AF283103) Esto confirma la primera detección en España de PMWV en un cultivo de piña tropical situado en la isla de La Palma.

PAN-174

**DETECCIÓN DE NUEVAS VIROSIS EN CUCURBITÁCEAS
(BPYV, CABYV Y CVYV) EN LA ISLA DE TENERIFE**

Espino, A.I.¹, Botella, M.¹, González, A.², Rúas, C.³, Aguilar, J.⁴, de Paz, I.³

¹ Laboratorio de Sanidad Vegetal. E:mail: aesppez@gobiernodecanarias.org

² Servicio de Genómica de ULL

³ Gestión del Medio Rural

⁴ Seeds Clause-Almería

Los cultivos de cucurbitáceas en la isla de Tenerife constituyen una economía importante principalmente en el mercado local. Actualmente estos cultivos tanto al aire libre como en invernadero alcanzan una superficie aproximada de 321 Ha.

Los primeros síntomas de amarilleo en cultivos de melón se detectan a principio de los años 90 en el norte la isla de Tenerife y en 1998 se detectan estos mismos síntomas sobre pepino. Al año siguiente (1999) se vuelve a presentar de nuevo esta sintomatología en diferentes zonas de las islas de Tenerife y Gran Canaria tanto en melón como en pepino y se confirma una nueva enfermedad de etiología viral, el virus del enanismo amarillo de las cucurbitáceas (*Cucurbit yellow stunting disorder virus*, CYSDV). En el año 2001 se vuelve a detectar esta misma enfermedad sobre calabaza y calabacín en Tenerife. Y en el año 2006 se detecta por primera vez en pepino el virus del falso amarillo de la remolacha (*Beet pseudo-yellow virus*, BPYV) en infección mixta con CYSDV en la isla de Gran Canaria.

En este trabajo presentamos los resultados de las diferentes virosis CYSDV, BPYV, *Cucurbit aphid-yellow virus* (CABYV) y *Cucumber vein yellow virus* (CVYV) que están causando los amarillos en diferentes cucurbitáceas (pepino, melón, calabacín y sandía) bajo invernadero de malla en el norte y suroeste de la isla Tenerife de la prospección realizada en el año 2009. Se observaron síntomas de mosaico, rizados y deformación en hojas apicales y clorosis internervial y amarilleo en hojas maduras en los cultivos de calabacín, melón y pepino excepto en sandía (mosaico suave y punteadura). En la mayoría de los cultivos había presencia de las dos especies de mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* y *Bemisia tabaci* y en calabacín se observaron poblaciones de pulgones.

Para la identificación de las diferentes virosis de cucurbitáceas (CYSDV, BPYV, CABYV y CVYV) se ha utilizado la técnica de hibridación molecular. Los resultados confirman la presencia de nuevas virosis en Tenerife: el virus del amarilleo de las cucurbitáceas transmitido por pulgones (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*, CABYV), el virus de las venas amarillas de las cucurbitáceas (*Cucumber vein yellowing virus*, CVYV) transmitido por *Bemisia tabaci* y BPYV transmitido por *Trialeurodes vaporariorum* en calabacín, pepino, melón y sandía.

PAN-175

PRIMERA DETECCIÓN DE *Grapevine leafroll-associated virus 4* EN ESPAÑA

Padilla, C.V.¹, López, N.¹, Cretazzo, E.², García de Rosa, B.¹, Padilla, V.¹, Hita, I.¹, Velasco, L.³

¹ Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario (IMIDA), La Alberca, Murcia. E-Mail: carlosv.padilla@carm.es

² Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca

³ Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria (IFAPA), Churriana, Málaga. E-mail: leonardo.velasco@juntadeandalucia.es

La selección sanitaria de la vid se realiza en las instalaciones del IMIDA (Murcia) –desde el año 1980– donde se reciben para su análisis clones candidatos procedentes de distintas CCAA, frente a las virosis establecidas por la actual legislación (Padilla y col., 2003). El diagnóstico se lleva a cabo aunando técnicas de indexage y de serología junto con técnicas de detección molecular que ayudan a resolver las discrepancias que en ocasiones se presentan entre las lecturas ELISA y los síntomas observados en las plantas indicadoras. En este contexto hemos podido detectar –mediante real-time RT-PCR empleando sondas TaqMan® (Osman y col., 2007)– *Grapevine leafroll-associated virus 4* en un clon de la variedad Gorgollosa y en dos clones de Mances de Tibus, procedentes de Baleares. Los tres clones resultaron, además, positivos a GLRaV-2 mediante ELISA y TaqMan® RT-PCR, mientras que los clones de Mances de Tibus se encontraban también infectados por GFLV; como por otra parte se comprobó al observarse síntomas de enrollado al injertar en Cabernet Sauvignon –utilizado como indicador– y de entrenudo corto al hacerlo con Rupestris de Lot. Para confirmar el diagnóstico se analizaron extractos de RNA de los tres clones por RT-PCR convencional con cebadores consenso derivados del gen *Hsp70h* de GLRaV-4: LR4H89 (5'-CATACCAACCGTTGTGGGTA-3') y LR4H327 (5'-TGCAATTACTCCTTGTTTT-3'). Los cDNA obtenidos fueron del tamaño adecuado (238 bp) y fueron clonados en pGEMT-Easy® (Promega). Mediante la comparación de las secuencias nucleotídicas se demostró que eran idénticas en esa región del genoma viral para los tres aislados (Acc. No. GU735409). Además mostraron una identidad del 99% con los genes homólogos *Hsp70h* de los aislados de GLRaV-4 LS-24 de China (GQ849394) y Cl-3642 de Chile (EU746619), respectivamente y del 89% con el aislado de Y253-TK de Turquía (DQ325516). Está en curso un análisis más detallado de los aislados, además de continuar con investigaciones epidemiológicas en el área de procedencia de los clones.

PAN-176

**DETECCIÓN DE *Eggplant mottled dwarf virus*
EN ORNAMENTALES EN ESPAÑA**

Alfaro-Fernández, A.¹, Córdoba-Sellés, M.C.¹, Tornos, T.², Cebrián, M.C.¹, Font, M.I.¹

¹ Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cno. Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: analfar1@doctor.upv.es

² Laboratori de Sanitat Vegetal. Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció rural (DAR). Generalitat de Catalunya. Via Circulació Nord, Tram VI, c/3, 08040 Barcelona

A finales de 2009 se observaron en invernaderos de Tarragona plantas de *Pittosporum tobira* que presentaban manchas amarillas distribuidas por las hojas, y en ocasiones clorosis de las venas. Simultáneamente, se observó la misma sintomatología en plantas de la misma especie procedentes de invernaderos de ornamentales de Valencia. Muestras sintomáticas procedentes de ambas localizaciones se analizaron mediante DAS-ELISA con antisueros policlonales frente a *Alfalfa mosaic virus* (AMV) y *Eggplant mottled dwarf virus* (EMDV), dos virus descritos en diversas especies de ornamentales e inductores de síntomas similares a los mostrados por las plantas de *P. tobira*. Los resultados serológicos obtenidos determinaron la infección de éstas por EMDV. Estas mismas muestras se analizaron mediante RT-PCR con cebadores degenerados del género *Nucleorhabdovirus* citados en bibliografía, y con cebadores específicos de EMDV diseñados a partir de las secuencias depositadas en la base de datos del GenBank. Los fragmentos obtenidos fueron secuenciados y comparados con las secuencias de la base de datos, obteniéndose un elevado porcentaje de identidad con la secuencia depositada en la base de datos del GenBank con número de accesión AM922322, obtenida de un aislado de EMDV de berenjena de Grecia.

Las prospecciones realizadas en jardines de Valencia determinaron la infección con este virus, tanto de plantas sintomáticas de *P. tobira* como asintomáticas de *Euonymus japonica*, y que formaban parte del mismo seto.

PAN-177

DETECCIÓN EN CATALUNYA DE *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) EN COL CHINA: SINTOMATOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

Tornos, T.¹, Cebrián, M.C.², Córdoba-Sellés, M.C.², Alfaro-Fernández, A.², Martí M.³, Ariño J.³, Font, M.I.²

¹ Laboratori de Sanitat Vegetal. Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció rural (DAR). Generalitat de Catalunya. Via Circulació Nord, Tram VI, c/3, 08040 Barcelona. E-mail: ttornos@gencat.cat

² Grupo de Virología Vegetal. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universidad Politécnica de Valencia. Cno. Vera s/n, 46022 Valencia

³ Federació d'Associacions de Defensa Vegetal Selmar. C/ Masia de Can Ratés s/n, 08398 Sta. Susanna. Barcelona

En octubre de 2009, aproximadamente el 50% de plantas de col china, *Brassica pekinensis* (lour) Rupr var. Sumiko, cultivadas en un campo de la localidad de Balaguer, Lleida, mostraron fuertes síntomas de enanismo, bandeado clorótico de nervios y mosaico amarillo de las hojas. Plantas sintomáticas se analizaron en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de Barcelona mediante la técnica serológica DAS-ELISA con anticuerpos específicos para *Turnip yellow mosaic virus* (TYMV) (Loewe Biochemmika GmbH) resultando positivas. También se detectó mediante DAS-ELISA el TYMV en semillas con porcentajes que varían entre el 1 y el 5% en función del lote. En ninguna de las muestras de campo se detectó *Cauliflower mosaic virus* (CaMV), *Beet western yellow virus* (BWYV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Cucumber mosaic virus* (CMV) o *Potyvirus*. Para corroborar este diagnóstico, muestras sintomáticas de col china fueron enviadas al Laboratorio de Virología del Instituto Agroforestal del Mediterráneo de la Universidad Politécnica de Valencia, donde se procedió al análisis de las muestras mediante la técnica molecular RT-PCR. Para ello se diseñaron cebadores específicos para TYMV a partir de la secuencia genómica de TYMV (GenBank Accession No. NC004063): TYMV-D (5'-CTCCACAAAGATCAATCTAGCAACC-3'), TYMV-R (5'-GATGGGGCAACCGACGTCATACT-3'), que amplifican un fragmento de 882 pb correspondiente al gen de la polimerasa del virus. El producto de PCR obtenido se purificó con el kit High Pure PCR Product purification (Roche) y se secuenció (Macrogen Inc.). El análisis de las secuencias obtenidas reveló una identidad nucleotídica del 95% con la secuencia de TYMV depositada en el GenBank (Acc. No. X16378). Paralelamente, las muestras se analizaron mediante RT-PCR con cebadores degenerados para la detección de *Tymovirus*, confirmándose en todas las muestras los resultados obtenidos.

PAN-178

INCIDENCIA DE *Leek yellow stripe virus* (LYSV) Y *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) EN AJO DE VALLELADO (SEGOVIA)

Lorenzana, A.¹, Campelo, M. P.¹, Marcos, M.F.¹, Lorenzana, S.¹, Gómez-Bernardo, E.M.¹, Gil, P.², Rincón, R.², Martín, C.², Ortega, I.²

¹ Laboratorio de Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales. E.S.T.I. Agraria, Universidad de León. Avda. Portugal, 41. 24071 León. E-mail: eialdi@unileon.es

² Laboratorio de Sanidad Vegetal de Segovia. Junta de Castilla y León. Ctra. de Arévalo s/n. 40006 Segovia

En el cultivo de ajo (*Allium sativum* L.) han sido detectadas más de ocho especies de virus formando generalmente un complejo que causa la enfermedad denominada «mosaico del ajo»; entre ellos, el *Onion yellow dwarf virus* (OYDV) y el *Leek yellow stripe virus* (LYSV) se describen como los que producen los mayores daños. Este cultivo adquiere importancia en Castilla y León en las provincias de Segovia y Valladolid, donde la «Asociación para la promoción del Ajo de Valledado» pretende impulsar la conservación y el reconocimiento bajo una Marca de Garantía del ajo blanco de Valledado. El objetivo de este trabajo fue conocer la incidencia de ambos virus en el ecotipo «Ajo de Valledado» y en «Garcua», variedad comercial fruto de una primera selección sanitaria del anterior. En la campaña del año 2009 se cultivaron alrededor de 106 ha y el estudio se llevó a cabo en 58 parcelas de productores integrados en la mencionada asociación, pertenecientes a 15 términos municipales de Segovia (7 municipios, 43 parcelas y 65 ha) y Valladolid (8 municipios, 15 parcelas y 41 ha), prospectadas por el Laboratorio de Sanidad Vegetal de Segovia, tomando aleatoriamente 30 plantas por hectárea al final de la campaña de cultivo. Se recogieron un total de 3.064 plantas, de las que 551 fueron «Ajo de Valledado» y 2.513 fueron «Garcua». Además, se hizo en campo una valoración inicial de los siguientes síntomas: rayado amarillo en hoja, manchas cloróticas o amarillas en hoja, hojas arrugadas y/o caídas, plantas enanas y secado de la parte apical de la planta. El material vegetal se remitió al Laboratorio de Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales de León donde se tomó una muestra de hoja por planta de forma individualizada y éstas se analizaron mediante ELISA-DAS para ambos virus, empleando anticuerpos policlonales. En cuanto a la sintomatología lo más observado fue el secado de la parte apical de las plantas y el rayado amarillo en hoja, ambos síntomas asociados a las patologías víricas estudiadas, si bien, en relación al primero, hay que considerar, además, que la toma de muestras se realizó en fechas próximas a la cosecha. Del total de plantas analizadas el 9,6% estaban infectadas por LYSV (6,9% en «Ajo de Valledado» y 10,2% en «Garcua») y el 43,0% lo estaban por OYDV (13,4% en «Ajo de Valledado» y 49,4% en «Garcua»). En cuanto a la infección por municipios, cabe destacar que en Valledado, donde hay mayor superficie cultivada y con más tradición, se alcanzaron niveles de infección elevados para ambos virus.

PAN-179

**DETECCIÓN SIMULTÁNEA DE LOS PRINCIPALES VIRUS
QUE AFECTAN AL CULTIVO DE CLAVEL Y GERBERA
MEDIANTE LA TECNOLOGÍA DE POLISONDAS**

Genovés, A.¹, Peiró, A.¹, Pallás, V.¹, Sánchez-Navarro, J.A.¹; Cano, E.²

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV), Campus UPV, CPI 8E, Ingeniero Fausto Elio s/n, 46022 Valencia. E-mail: jesanche@ibmcp.upv.es

² BARBERET & BLANC,S.A. Apdo. Correos 38 - Camino Viejo, 205. 30.890 Puerto Lumbreras-Murcia. website: www.barberet.com. E-mail: emilio@barberet.com

Clavel y Gerbera son dos de los principales contribuidores al mercado de la flor cortada en todo el mundo, multiplicándose normalmente mediante propagación vegetativa. Ambos cultivos se ven particularmente afectados por una serie de enfermedades de origen viral que limitan de manera muy significativa su comercialización. Entre las principales virosis que afectan al clavel destacan las ocasionadas por: el *virus del moteado del clavel* (*Carnation mottle virus*, CarMV), *virus del anillo grabado del clavel* (*Carnation etched ring virus*, CERV), *virus del moteado de la vena del clavel* (*Carnation vein mottle virus*, CVMV), *virus de las manchas en anillo del clavel* (*Carnation ringspot virus*, CRSV), *virus italiano de las manchas en anillo del clavel* (*Carnation italian ringspot virus*, CIRSV), *virus latente del clavel* (*Carnation latent virus*, CLV), el *virus de las manchas necróticas del clavel* (*Carnation necrotic fleck virus*, CNFV), *virus de las manchas necróticas de la Impatiens* (*Impatiens necrotic spot virus*, INSV) y el *virus del bronceado del tomate* (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) mientras que en gerbera destacan: el *virus del mosaico del pepino* (*Cucumber mosaic virus*, CMV), el *virus del mosaico del tabaco* (*Tobacco mosaic virus*, TMV), el *virus del cascabeleo del tabaco* (*Tobacco rattle virus*, TRV), INSV y TSWV. Dado que, a diferencia de lo que ocurre con bacterias y hongos, no existe un tratamiento efectivo de control de dichos patógenos, el diagnóstico precoz resulta ser hasta la fecha el principal método de prevención de virus. En el presente trabajo hemos ajustado la hibridación molecular no radioactiva para la detección simultánea de los principales virus que afectan al cultivo de clavel y gerbera mediante el uso de una única sonda o 'polisonda' que contiene, fusionadas en tandem, las diferentes secuencias virales. Para ello, hemos generado tres polisondas con capacidad para detectar los principales virus de clavel (Poli 7), gerbera (Poli 6) o de ambos cultivos (Poli 13) y hemos comparado su límite de sensibilidad/especificidad frente a las correspondientes sondas individuales. Previamente, esta tecnología se ha mostrado una alternativa eficiente y barata en cultivos tales como frutales (Herranz et al., 2005; JVM 124, 49-55), tomate (Aparicio et al., 2008; EJPP 123, 117-123) y cítricos (Cohen et al., 2006; Virus Genes 33, 287-292) pero no se había aplicado con anterioridad a ornamentales y constituye una mejora significativa comparada a la mezcla de ribosondas (Sánchez-Navarro et al., 1999; JVM 55, 167-175).

PAN-180

**DIVERSIDAD PATOGENICA ENTRE GRUPOS DE COMPATIBILIDAD
MICELIAR DE *Sclerotium rolfsii***

Remesal, E.¹, Jordán-Ramírez, R.¹, Jiménez-Díaz, R.M.^{1,2}, y Navas-Cortés, J.A.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Apdo. 4084, 14080 Córdoba

² ETSIAM, Universidad de Córdoba, C4, Campus Rabanales, 14071 Córdoba.

E-mail: jnavas@ias.csic.es

Las enfermedades causadas por *Sclerotium rolfsii* continúan siendo unas de las de más difícil manejo en los sistemas agrícolas sostenibles. Entre las mejores estrategias para su control integrado están la rotación con cultivos no huésped del patógeno. Sin embargo, la amplia gama de plantas susceptibles a éste (más de 500 especies) y la variabilidad genética de sus poblaciones dificultan la aplicación de dicha medida de control. En este estudio aborda la caracterización de la diversidad patogénica de grupos de compatibilidad miceliar (MCG) de *S. rolfsii* sobre un conjunto de especies huésped de interés agrícola en áreas de clima mediterráneo.

Para ello, se realizaron experimentos en condiciones controladas en los que se evaluó la reacción de 12 especies herbáceas cultivadas de diversas familias de mono- y dicotiledóneas a 30 aislados de *S. rolfsii* representativos de los 13 MCGs identificados en poblaciones del hongo que infectaban remolacha azucarera de siembra otoñal (principal huésped de este patógeno en España), en regiones de clima Mediterráneo de Chile, España, Italia y Portugal. Para cada combinación aislado-especie huésped se inocularon plántulas en el estadio de 2 hojas verdaderas con semillas de avena colonizadas por el hongo y se incubaron a 28 ± 1 °C. La reacción se evaluó por el período de incubación e incidencia de plantas muertas. Los datos se analizaron mediante modelos log-lineales y multivariante.

Los resultados indicaron una amplia variabilidad patogénica para los MCGs en el estudio, así como en los niveles de susceptibilidad a ellos en las diferentes especies huésped, no observándose diferencias en el patrón ni nivel de virulencia entre aislados pertenecientes a un mismo MCG. Ninguno de los aislados evaluados resultó patogénico sobre las dos especies de monocotiledóneas (maíz y trigo). En las restantes 10 especies huésped se pudieron diferenciar tres grupos con similar patrón de susceptibilidad: (a) garbanzo y girasol; (b) pimiento, sandía y algodón; y (c) resto de especies. Los MCGs i y iii, más abundantes y extendidos geográficamente, presentaron patrones similares de virulencia y fueron patogénicos sobre la mayoría de las especies evaluadas. El resto de MCGs (ii, iv-xiii) presentaron en general un menor nivel de virulencia, así como cierta especialización sobre determinada(s) especies huésped. Nuestros resultados indican el riesgo de Podredumbres de raíces por *S. rolfsii* en áreas con historia del patógeno en remolacha azucarera del Sur de España, que en la actualidad están siendo ocupados por diversos cultivos alternativos, dado el importante retroceso que la remolacha ha experimentado en los últimos años en esta región.

*Investigaciones subvencionadas por: AGL2005-00751.

PAN-181

VISUALIZACIÓN DEL PROCESO DE INFECCIÓN DE *Fusarium circinatum* EN *Pinus radiata* MEDIANTE MICROSCOPIA CONFOCAL

Martín-Rodrigues, N., Espinel Marzo, S., Ortiz-Barredo, A.

Departamento de Producción y Protección Vetegal, NEIKER-TECNALIA, apto. 46, Arkaute-01080, Álava, España (nmartinr@neiker.net)

Con el fin de monitorizar el proceso de infección de *Fusarium circinatum* (Nirenberg y O'Donnell), patógeno de cuarentena causante de la enfermedad conocida como chancro resinoso del pino, en plántulas de *Pinus radiata* D. Don, hemos obtenido transformantes de un aislado de *Fusarium circinatum* que porta la región estructural del gen GFP bajo el control de señales que permiten su expresión en hongos filamentosos. Se ha comprobado que tanto el ADN transformante como la expresión de la proteína GFP son estables, y que la capacidad infectiva y de virulencia del transformante no se ha visto afectada. Para el análisis del proceso de infección mediante microscopía confocal se ha estudiado la producción de conidios y el avance del micelio a lo largo del tallo de la planta y se han correlacionado estos datos con el progreso de la enfermedad.

PAN-182

**«LAS MORCILLAS»: UN PROBLEMA DE ORIGEN DESCONOCIDO
QUE AFECTA A ENCINAS TRUFERAS**

Zuriaga, P.¹ Pérez, V.²

¹ Departamento de Agricultura y Alimentación. Gobierno de Aragón. C/ San Francisco n.º 1 Teruel. pzuriaga@aragon.es

² Laboratorio de Sanidad Forestal. Departamento de Medio Ambiente de Teruel. Gobierno de Aragón. C/ Agustín Planas Sancho n.º 10. Mora de Rubielos. Teruel. labsanfor@aragon.es

El cultivo de la encina micorrizada de *Tuber melanosporum* para la obtención de trufa ha experimentado un aumento considerable en los últimos años en la Provincia de Teruel aproximándose a las 5.000 hectáreas en cultivo regular.

Los problemas fitosanitarios de las encinas naturales se han trasladado y multiplicado en las plantaciones. La presencia de abultamientos o morcillas en ramas y tronco, que generan con el tiempo resquebrajamientos, provocan a veces la muerte de las ramas afectadas.

Estos síntomas presentes en muchas plantaciones han generado preocupación entre los agricultores de este cultivo, ciertamente novedoso.

Sobre los abultamientos no se ha determinado la presencia de hongos, bacterias, insectos o ácaros cuya actividad pueda provocarlos. Este póster es una llamada a la comunidad científica para ayudarnos a localizar el o los agentes causantes de los abultamientos y las posibles soluciones.

PAN-183

DESARROLLO DE CLONES DE cDNA DE LONGITUD COMPLETA DEL VIRUS 1 DEL MARCHITAMIENTO DEL HABA Y OBTENCIÓN DE TRANSCRITOS INFECCIOSOS EN DISTINTOS HUÉSPEDES

Ferriol, I., Rubio, L., Ambrós, S.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada, Valencia

El virus 1 del marchitamiento del haba (*Broad bean wilt virus 1*, BBWV-1) es el miembro tipo del género *Fabavirus* dentro de la subfamilia *Comovirinae*. Los virus de este género producen daños en un gran número de cultivos hortícolas y ornamentales, están distribuidos por todo el mundo y se dispersan eficazmente por varias especies de pulgón. La biología molecular de este grupo de virus, a diferencia de los otros dos géneros de esta subfamilia (*Comovirus* y *Nepovirus*), ha sido muy poco estudiada debido a la ausencia de un abordaje de genética reversa basado en la disponibilidad de clones infecciosos. Para conseguir este último objetivo, en este trabajo hemos amplificado el genoma completo de un aislado español de BBWV-1, formado por los RNAs 1 y 2 (de 3,4 y 5,8 Kb, respectivamente), utilizando RT-PCR larga (con alta fidelidad de copia) y cebadores específicos de los extremos 5' y 3' de ambos RNAs. Los cDNAs sintetizados se han clonado en vectores de alto número de copias bajo el control del promotor del fago T7 seguidos de una cola poly A en su extremo 3'. Un conjunto de los clones obtenidos del RNA 1 y 2 se han utilizado como molde para sintetizar transcritos con distintos tipos de extremos 5' (generando previamente productos de PCR con diferentes cebadores para su posterior transcripción *in vitro*). Los transcritos sintetizados se utilizaron para inocular mecánicamente diferentes huéspedes como *Nicotiana benthamiana*, *Vicia faba* y *Chenopodium quinoa*. Todos los transcritos obtenidos resultaron infecciosos en los distintos huéspedes ensayados con una tasa de infección y acumulación viral (evaluada mediante RT-PCR cuantitativa y Northern-blot) similar a la del aislado viral original. Al cabo de diez días postinoculación, se observó la aparición de los síntomas característicos de la infección viral tanto en las plantas control inoculadas con el aislado original como en las plantas inoculadas con los transcritos, pudiéndose recuperar el virus a partir de éstas últimas y transmitirlo mecánicamente a otras plantas con la misma eficacia que el aislado original. Es importante destacar que éste es el primer clon infeccioso que se obtiene de BBWV-1 y que la producción de transcritos infecciosos constituirá una herramienta valiosa para poder identificar las regiones del genoma implicadas en las distintas funciones necesarias para el ciclo viral, así como para el estudio de la interacción del virus con sus huéspedes vegetales y vectores.

**PANELES DE
SESIÓN SIMULTÁNEA IV:
CONTROL**



PAN-184

**MEJORA DE LA CAPACIDAD DE COLONIZACIÓN Y EFICACIA
EN EL CONTROL DEL FUEGO BACTERIANO EN *Pseudomonas
fluorescens* EPS62e MEDIANTE ENRIQUECIMIENTO NUTRICIONAL
Y OSMOADAPTACIÓN**

Bonaterra A., Cabrefiga, J., Francés, J., Roselló, G., Montesinos, E.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, 17071 Girona. E-mail: anna.bonaterra@udg.edu

La eficacia de *P. fluorescens* EPS62e en el biocontrol del fuego bacteriano causado por *Erwinia amylovora*, depende de su capacidad de colonizar la superficie de las plantas y de conseguir poblaciones suficientes para excluir el patógeno. Para incrementar su supervivencia en la fitosfera se ha desarrollado un procedimiento consistente en la combinación de enriquecimiento nutricional y osmoadaptación. Como complementos nutritivos se seleccionaron glicina y Tween80 ya que entre una amplia gama de nutrientes, ambos promueven un mayor crecimiento de la cepa EPS62e y tienen un mínimo efecto en *E. amylovora*. Se utilizó también una estrategia de osmoadaptación previamente descrita que mejora la supervivencia de EPS62e en condiciones de estrés hídrico, y consiste en inducir la síntesis de osmolitos y su acumulación intracelular mediante el estrés salino durante la fase de preparación del cultivo. Se realizaron estudios de colonización y supervivencia de EPS62e en flores sometidas a condiciones ambientales controladas de altas y bajas humedades relativas. La combinación de enriquecimiento nutricional y osmoadaptación produjeron aumentos significativos de los niveles poblacionales especialmente en flores sometidas a condiciones de baja humedad relativa.

Posteriormente, se realizaron estudios de supervivencia de EPS62e en flores de manzano y peral en condiciones de campo. Se monitorizaron los niveles poblacionales a lo largo del tiempo mediante PCR a tiempo real y recuento de viables en placa. Los valores estimados por ambas técnicas fueron muy similares excepto en las 48 h posteriores a la aplicación en campo cuando los valores determinados por rtPCR fueron superiores a los de viables. En las flores tratadas con EPS62e con enriquecimiento nutricional dichas diferencias de estimación entre técnicas no fueron significativas, lo que indicaba que la cepa se encontraba en buenas condiciones fisiológicas.

La combinación de enriquecimiento nutricional y osmoadaptación produjo aumentos significativos de los niveles poblacionales de EPS62e en flores en condiciones de campo después de 6 días tras el tratamiento y mejoró también la eficacia en el biocontrol de *E. amylovora*.

* Este trabajo ha sido financiado en parte por los proyectos del MICINN AGL2006-13564-c02-01/AGR y AGL2009-13255-c02-01.

PAN-185

RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE MARCADORES MOLECULARES DE SÍNTESIS DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS Y LA ACTIVIDAD ANTAGONISTA CONTRA BACTERIAS FITOPATÓGENAS EN *Bacillus* spp. ASOCIADOS A PLANTAS

Cabrefiga, J. Mora, I., Montesinos, E.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-CIDSAV-XaRTA, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, 17071, Girona, E-mail: jordic@intea.udg.edu

El genero *Bacillus* está ampliamente distribuido en la Naturaleza y ha sido ampliamente utilizado en la preparación de bioplaguicidas o promotores del crecimiento (PGPR) de las plantas. La mayoría de cepas del genero *Bacillus* utilizadas como bioplaguicidas y PGPR se ha relacionado con la producción de gran variedad de enzimas, compuestos surfactantes y antimicrobianos. El objetivo del presente estudio fue analizar una extensa colección de aislados de *Bacillus* asociados a plantas obtenidos de diferentes orígenes para estudiar la distribución y frecuencia de seis genes biosintéticos de péptidos antimicrobianos (PAMs) y determinar su relación con la intensidad de la actividad antibacteriana. Una colección de 184 aislados de *Bacillus* spp. obtenidos a partir de muestras naturales se caracterizaron en cuanto a la presencia de genes biosintéticos de PAMs. Concretamente se estudiaron los genes *srfAA* (surfactina), *bacA* (bacilisina), *fenD* (fengicina), *bmyB* (bacilomicina), *spaS* (subtilina) y *ituC* (iturina). Se observó que la mayor parte de cepas contenían entre 2 y 4 marcadores de PAMs simultáneamente, pero la presencia de 5 genes simultáneos era poco frecuente y no se encontró ninguna cepa que presentara los 6 marcadores. Los marcadores más frecuentes fueron el *srfAA*, *bacA*, *bmyB* y *fenD*, siendo los genotipos más frecuentes *srfAA-bacA-bmyB* y *srfAA-bacA-bmyB-fenD*. Paralelamente se estudió la actividad antagonista de las cepas contra ocho bacterias fitopatógenas. Se observó que la proporción de cepas con alta actividad antibacteriana se incrementaba al incrementarse el número de marcadores de PAMs por cepa. Además, la proporción de cepas con *srfAA*, *bmyB* o *fenD* era mayor en *Bacillus* altamente antagonistas que en cepas poco activas o inactivas. Cabe destacar que la distribución de los genes *bacA*, *spaS* y *ituC* no difirió entre cepas activas e inactivas. Un análisis de correspondencias agrupó las variables estudiadas en dos grandes grupos delimitados por las cepas altamente activas y por cepas poco activas o inactivas. Los grupos eran definidos por dos dimensiones que incluyen (1) el número y el tipo de genes biosintéticos simultáneos en una cepa, y (2) el origen de la muestra. Se concluye que los marcadores moleculares basados en genes de PAMs pueden ser una herramienta para el cribado de colecciones de cepas de *Bacillus* para seleccionar cepas altamente antagonistas contra bacterias fitopatógenas.

*Investigación subvencionada por AGL2009-13255-C02-01.

PAN-186

**PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS ANTIBACTERIANOS EN ARROZ
COMO BIOFACTORIA MEDIANTE EXPRESIÓN CONSTITUTIVA
Y RETENCIÓN EN EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO**

Montero, M.¹, Nadal, A.¹, Pla, M.¹, Badosa, E.¹, Feliu, L.¹, Planas, M.¹, Messeguer J.², Bardají, E.¹, Montesinos, E.¹

¹ Institut de Tecnologia Agroalimentària y LIPPSO, Universitat de Girona

² Genètica Vegetal, Centre de Recerca en Agrigenòmica CRAG

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son péptidos de bajo peso molecular, producidos por gran variedad de organismos a los que suponen una primera línea de defensa contra gran número de patógenos. Debido a su elevada biocompatibilidad, moderada biodegradabilidad y reducido riesgo de aparición de resistencias en los organismos diana, ofrecen interesantes perspectivas como productos antibacterianos y antifúngicos para la protección vegetal. En trabajos previos se utilizó una aproximación de química combinatoria para diseñar BP134, un undecapéptido derivado de Cecropina A y Melitina, con actividad antibacteriana contra tres bacterias fitopatógenas que hasta el momento sólo se pueden combatir mediante antibióticos y derivados cúpricos. BP134 presenta además reducida actividad hemolítica y muy baja toxicidad en ratón. Se presenta la producción de derivados de BP134 en arroz, siguiendo una estrategia de expresión constitutiva y retención en el retículo endoplasmático (RE), para acumular la mayor cantidad posible de péptido y facilitar su estabilidad frente a proteasas vegetales. Debido al reducido tamaño de BP134, ha sido necesario el diseño de una quimioteca y la síntesis química de ~50 derivados de BP134 de tamaños superiores, en base a la elongación de BP134 con secuencias de otros PAMs naturales y en su di- o tri-merización, o añadiendo la señal KDEL para retención en el RE y otras secuencias para facilitar la detección y análisis. Se ha estudiado su actividad antibacteriana frente a tres bacterias fitopatógenas (*Erwinia amylovora*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* y *Pseudomonas syringae*), y la actividad hemolítica. En base a las propiedades de dichos PAMs se han seleccionado 11 con los que se han desarrollado construcciones genéticas para su posterior transformación en arroz. Para ello los genes correspondientes a dichos PAMs han sido clonados en un vector para la expresión en plantas (pCAMBIA 1300) seguido de transformación en arroz realizada mediante *A. tumefaciens* y selección de las líneas transformantes mediante resistencia a higromicina. Ha sido posible obtener plantas transgénicas que expresan varios derivados de BP134 activos. Las líneas generadas se caracterizan molecularmente para comprobar la integración y el número de copias del transgén integradas en el genoma de la planta y los niveles de expresión del transgén.

* Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto EUI 2008-035725 y en parte por el proyecto AGL2007-65903AGR.

PAN-187

DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA PARA LA PROSPECCIÓN MASIVA DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES CAUSADAS POR BACTERIAS FITOPATÓGENAS

Ventolà, A.¹, Badosa, E.¹, Cabrefiga, J.¹, Ramos, C.², Montesinos, E.¹

¹ Institut de Tecnologia Agroalimentària-CIDSAV-XaRTA Universitat de Girona. Email: anna.ventola@udg.edu

² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son polipéptidos de menos de 50 aminoácidos de origen natural producidos por distintos organismos o compuestos sintéticos, y presentan gran diversidad de estructuras y secuencias. Debido a su actividad antimicrobiana muestran un gran interés para el control de enfermedades causadas por bacterias y hongos fitopatógenos en agricultura. Una de las estrategias consiste en obtener péptidos sintéticos de tamaño reducido que mantengan una actividad antimicrobiana similar a los naturales y optimizarlos mediante química combinatoria para que presenten mejores aptitudes a nivel de actividad, toxicidad y estabilidad. Con esta aproximación se generan una gran cantidad de compuestos (varios centenares) que deben ser evaluados. El objetivo de este trabajo es desarrollar una plataforma de alto rendimiento (*high throughput screening*, HTS) para evaluar la actividad de números elevados de péptidos de forma rápida, sencilla y eficiente. Además se pretende evaluar simultáneamente si el mecanismo de acción antimicrobiana está mediado por ruptura de la membrana celular o interferencia con la actividad celular sin mediar daños en la membrana. La plataforma consiste en la combinación de dos técnicas fluorimétricas *in vitro* utilizando para su determinación un equipo *Varioskan*. La primera permite el análisis de la capacidad del péptido para distorsionar la membrana celular, utilizando el colorante fluorescente SYTOX green que presenta la capacidad de penetrar intracelularmente, interactuar con el DNA y emitir fluorescencia, sólo si la permeabilidad de la membrana celular está comprometida. La segunda técnica permite evaluar la actividad celular mediante la determinación de la emisión de fluorescencia en células marcadas con el gen *gfp*. Se trata de utilizar proteínas GFP inestables que se caracterizan por presentar puntos de corte específicos de proteasas bacterianas, y que por tanto, ponen de manifiesto la viabilidad de las células mediante la emisión de fluorescencia cuando están activas, pero ésta se pierde rápidamente cuando están inactivas. Concretamente, se utilizan como modelo las especies de bacterias fitopatógenas *Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora* y *Xanthomonas axonopodis* transformadas con técnicas de electroporación o conjugación tetraparental, utilizando un transposón mini-Tn7 que contiene el promotor P_{01/03/04} fusionado a genes codificadores de distintas GFP inestables.

PAN-188

**PAPEL DE POLISACÁRIDOS DE LA ENVOLTURA CELULAR
BACTERIANA EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS
EN EL AGENTE DE BIOCONTROL *Agrobacterium rhizogenes* K84**

Abarca-Grau, A.M., E. Marco-Noales, E., López, M.M. y Peñalver, R.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)

Agrobacterium spp. es una bacteria rizosférica que causa tumores en más de 600 especies de plantas. Esta enfermedad puede ser eficazmente controlada mediante la aplicación preventiva en las raíces del agente de biocontrol *A. rhizogenes* K84, que es capaz de unirse firmemente a materiales inertes, como el polipropileno, y además coloniza eficazmente la raíces formando complejas estructuras multicelulares llamadas biopelículas. La capacidad de formación de biopelículas en las raíces puede ser un factor importante en su éxito como agente de biocontrol. Con el propósito de conocer los genes implicados en la formación de biopelículas, hemos analizado una librería de mutantes de la cepa K84 en placas de polipropileno. Se identificaron dos mutantes afectados en la formación de biopelícula. Uno de ellos es incapaz de unirse y formar biopelícula sobre el polipropileno, pero por el contrario se une y forma biopelícula sobre la superficie de ápices radiculares de tomate. El gen interrumpido en este mutante es un ortólogo del gen *wcbD/bexC*, implicado en la biosíntesis y transporte de polisacáridos capsulares de tipo 2 en otras bacterias. La expresión de una copia funcional de este gen en el mutante restauró la capacidad de unirse y de producir biopelícula en polipropileno. El otro mutante identificado produce más biopelícula que la cepa K84 tanto en dicha superficie abiótica, como en la superficie de ápices radiculares. El gen interrumpido en este mutante es el gen *rkpK*, implicado en la biosíntesis del lipopolisacárido (LPS) y del polisacárido capsular antígeno K (KPS) de *Rhizobium* spp. El análisis de los LPSs de este mutante muestra una clara alteración en la composición del LPS y reveló que la cepa K84 no produce el polisacárido capsular de alto peso molecular KPS. Este estudio muestra que una posible cápsula de la cepa K84, aún no caracterizada, está implicada en interacciones célula-superficie, mientras que componentes del LPS parecen estar implicados en interacciones célula-célula dentro de las biopelículas.

PAN-189

**PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS SINTÉTICOS ACTIVOS
CONTRA BACTERIAS FITOPATÓGENAS UTILIZANDO SEMILLAS
DE ARROZ COMO BIOFACTORÍA**

Montesinos, L.¹, Campo, S.², San Segundo, B.², Coca, M.², Fontanet, P.², Badosa, E.¹, Güell, I.¹, Feliu, L.¹, Planas, M.¹, Bardají, E.¹, Montesinos, E.¹

¹ LIPPSO, Institut de Tecnologia Agroalimentària-CIDSAV-XaRTA, Universitat de Girona

² Departamento de Genética Molecular, Centre de Recerca en Agrigenòmica (CRAG)

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) representan una expectativa para el control de agentes fitopatógenos en plantas. Mediante química combinatorial se ha obtenido una quimioteca de undecapéptidos lineales, CECMEL11 con numerosos compuestos que muestran actividad antimicrobiana contra bacterias fitopatógenas y controlan infecciones en plantas huésped. Debido al elevado coste de síntesis química de los PAM se ha optado por su producción y acumulación en la semilla de arroz, órgano de reserva de la planta donde pueden almacenarse durante largos periodos de tiempo. Para optimizar su producción se utilizan promotores de genes que codifican para proteínas de reserva de la semilla (arroz). Para aumentar la estabilidad de los PAM y reducir la toxicidad del péptido en la célula vegetal, se desarrollan estrategias para su direccionamiento y acumulación en compartimentos celulares concretos (cuerpos proteicos y lipídicos). Se han preparado los correspondientes genes sintéticos adaptando su secuencia de DNA al uso de codones de arroz. Éstos han sido clonados en un vector para la expresión en plantas (pCAMBIA 1300) bajo control del promotor de un gen activo en el endospermo de la semilla de arroz (Glutelina B-4, Glutelina B-1 o Globulina). Dichos promotores fueron obtenidos mediante amplificación por PCR a partir de DNA genómico de arroz (*Oryza sativa* cv Senia, japónica). La transformación de arroz se realiza mediante *A. tumefaciens* y la selección de las líneas transformantes mediante resistencia a higromicina. Las líneas generadas son caracterizadas molecularmente para comprobar la integración y el número de copias del transgén integradas en el genoma de la planta y los niveles de expresión del transgén. Paralelamente se producirán PAMs en forma de proteína fusión a la oleosina-18K de arroz que permitirá su purificación a partir de cuerpos lipídicos portadores oleosina-PAM. Para dicha estrategia se ha clonado el gen de la oleosina-18 kDa (promotor y cDNA completo). Se ha purificado la proteína oleosina-18kDa a partir de semillas de arroz, utilizada con éxito para la obtención de anticuerpos policlonales en conejo que permitirán la detección de la proteína fusión oleosina-PAM en las líneas transgénicas de arroz. Para el procesado de la biomasa obtenida se han optimizado protocolos de extracción y purificación de PAMs mediante cromatografía de intercambio catiónico y posterior detección por HPLC y MALDI-TOFF. Se han puesto a punto ensayos de actividad *in vitro* de las fracciones obtenidas contra las bacterias fitopatógenas de interés.

* Este trabajo ha sido financiado en parte por el proyecto EUI 2008-035725.

PAN-190

**LOS POLISACÁRIDOS SUCCINOGLICANO
Y β -1-2-GLUCANO CÍCLICO INTERVIENEN EN LA MOVILIDAD
BACTERIANA Y EN LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS
EN EL AGENTE DE BIOCONTROL *Agrobacterium rhizogenes* K84**

Abarca-Grau, A.M., Collado, J., Marco-Noales, E., López, M.M., Peñalver, R.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)

Las biopelículas bacterianas son estructuras complejas formadas por diversas capas de células embebidas en una matriz formada principalmente por exopolisacáridos producidos por las mismas bacterias. La cepa K84 de *A. rhizogenes*, agente de biocontrol de los tumores de plantas causados por *Agrobacterium* spp., coloniza eficazmente las raíces formando biopelículas. En este trabajo se ha estudiado el papel del exopolisacárido succinoglicano y del polisacárido periplásmico β -1-2-glucano cíclico en la movilidad bacteriana y en la formación de biopelículas en este agente de biocontrol. Además, hemos estudiado el papel de dos sistemas de regulación de exopolisacáridos, un sistema de dos componentes FeuPQ y la proteasa periplásmica CtpA. Los mutantes de K84 *suc*⁻, *ndvB*⁻, *feuP*⁻ y *ctpA*⁻ presentaron una menor movilidad en superficie, también en movilidad tipo *swimming* en medios con baja osmolaridad, contenido en hexosas totales y menor capacidad de formación de biopelículas *in vitro* con respecto a la cepa salvaje K84. Por tanto, estos resultados sugieren que el exopolisacárido succinoglicano y el polisacárido periplásmico β -1-2-glucano cíclico son críticos para la viabilidad en medios de baja osmolaridad, y tienen un importante papel en la movilidad bacteriana y la correcta formación de biopelículas *in vitro* en el agente de control biológico K84.

PAN-191

**AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS
 DE *Bacillus* spp. CON APTITUDES EN BIOCONTROL
 DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS**

Mora, I., Cabrefiga, J., Montesinos, E.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universitat de Girona.
E-mail: isabel.mora@udg.edu

El género *Bacillus* presenta numerosas características que lo hacen un buen candidato para la obtención de cepas activas en el biocontrol de bacterias y hongos fitopatógenos. Se trata de un grupo de microorganismos ubicuos, con capacidad para producir metabolitos con actividad antimicrobiana, y además presentan una característica relevante, la formación de esporas, que permite una fácil formulación y mejora de la supervivencia en campo. Por otra parte varias cepas del género *Bacillus* han sido registradas como ingrediente activo de productos fitosanitarios en diferentes países para su uso en el control de enfermedades de las plantas. Sin embargo, su aplicación ha sido ampliamente descrita en hongos y son pocas las referencias centradas en el control de bacteriosis. El objetivo de éste trabajo fue la obtención de cepas de *Bacillus* con actividad en el biocontrol de bacterias fitopatógenas. Para ello se ha confeccionado una colección de 184 aislados procedentes de siete zonas del Noreste del Mediterráneo. Los aislados fueron identificados como *Bacillus* spp. mediante PCR dirigida a las regiones *16S rDNA* y *spoVG* (región que codifica para una proteína que interviene en la formación de la espora). Además se ha determinado su actividad antagonista *in vitro* contra 8 bacterias fitopatógenas (*Rhizobium radiobacter*, *Erwinia amylovora*, *Pectobacterium carotovora* sbsp. *carotovorum*, *Xanthomonas arboricola* pv. *fragariae*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *Clavibacter michiganensis* sbsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Ralstonia solanacearum*). Un 91,3% de las cepas de la colección presentaron un efecto inhibitorio contra al menos uno de los 8 indicadores, siendo el más sensible *C. michiganensis* y el menos sensible *P. carotovora*. De ésta primera colección han sido seleccionadas 10 cepas, las cuales presentan un elevado índice de actividad *in vitro* sobre un mínimo de 5 de los indicadores estudiados. Las cepas seleccionadas han sido caracterizadas e identificadas a nivel de especie mediante la combinación de pruebas bioquímicas del test API 50 CHB y la secuenciación parcial del *16S rDNA* y *rpoB*. Paralelamente se ha determinado la presencia de 6 genes biosintéticos que intervienen en la síntesis de péptidos antimicrobianos (PAMs) incluyendo *srfAA* (surfactina A), *bacA* (bacilisina), *bmyB* (bacilomicina), *fenD* (fengicina), *spaS* (subtilina) e *ituC* (iturina C) mediante PCR. Finalmente se han realizado los bioensayos de inhibición de infecciones por *E. amylovora* en flores y frutos inmaduros de peral, y de *P. syringae* en hojas inmaduras de peral. En ambos bioensayos, se observó que la mayor parte de las cepas evaluadas presentaron actividad en la inhibición de las infecciones, con una eficacia en la reducción de la severidad de la infección mayor del 50% en algunos casos.

* Investigación subvencionada por AGL2009-13255-C02-01.

PAN-192

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOFILMS
DE ALGUNAS BACTERIAS FITOPATOGENAS: AVANCES
EN EL CONOCIMIENTO DE MÉTODOS DE CONTROL**

Redondo, C., Ferragud, E., Gell, I., Sena, M., Cubero, J.

Departamento de Protección Vegetal. INIA. Ctra. de La Coruña, km 7.500, 28040 Madrid. E-mail: cubero@inia.es

La formación de biopelículas o biofilms es una de las estrategias de supervivencia de las bacterias ante condiciones adversas. Los biofilms son comunidades microbianas sésiles formadas por células que se encuentran agrupadas y adheridas a un sustrato o interfase exhibiendo un fenotipo alterado en comparación con el de las bacterias libres o planctónicas. La capacidad de formación de biofilms supone una ventaja, ya que las bacterias que lo forman presentan mayor resistencia a condiciones ambientales adversas, incluyendo la exposición a productos químicos normalmente empleados en el control de las enfermedades que causan. Los biofilms tienen, por tanto, una importante implicación en la epidemiología y el control de las enfermedades de las plantas causadas por bacterias.

Xanthomonas citri subsp. *citri* (Xcc) y *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolia*, agentes causales de la canchrosia de los cítricos, son capaces de formar biofilms en la superficie de hojas y frutos susceptibles.

En este trabajo se ha evaluado, *in vitro* e *in vivo*, la capacidad de inhibición de formación de biofilms de determinados agentes químicos con actividad bactericida y/o bacteriostática para diferentes cepas de estas especies, en comparación con otras fitobacterias cuya capacidad de formación de biofilms está ampliamente descrita en la literatura.

En primer lugar, se evaluó la influencia de diferentes medios de cultivo, suplementados o no con una fuente de carbono, en la formación de biofilms *in vitro*. A continuación, se analizó la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano y de la formación de biofilms de cuatro sustancias químicas en concentraciones letales y subletales.

Se realizaron dos tipos de ensayos: *in vitro*, utilizando un método colorimétrico basado en la tinción de bacterias adheridas a las superficies y mediante observación por microscopía confocal de cepas marcadas con la proteína Gfp en su forma estable o inestable. Esta última estrategia se utilizó también en los ensayos realizados *in vivo* en superficies de hojas y frutos.

Los resultados de estos estudios permiten determinar el efecto de las sustancias de control antes de su aplicación en campo y la eficacia frente a la bacteria, además de dar información básica que puede ser empleada para el abordaje de nuevas estrategias de control.

PAN-193

**LA RIZOSFERA DE OLIVO SILVESTRE Y CULTIVADO
EN ANDALUCÍA COMO FUENTE DE RIZOBACTERIAS CON POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO Y ANTAGONISTA CONTRA *Verticillium dahliae***

Aranda, S., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R.M., Landa, B.B.

Instituto de Agricultura Sostenible (IAS)-CSIC. Apdo. correos 4084, 14080. Córdoba. E-mail: blanca.landa@ias.csic.es; z62arocs@uco.es

La rizosfera es un nicho ecológico altamente dinámico que contiene una gran diversidad de microorganismos con capacidad de producir metabolitos de utilidad tanto en la agricultura, como alternativa potencial al control químico de agentes fitopatógenos, como en la medicina e industria. El olivo silvestre (OLS) y cultivado (OLC) representan una fuente importante y poco explorada de variabilidad genética, que puede constituir un reservorio único de microorganismos antagonistas contra *Verticillium dahliae*, el agente causal de la Verticilosis. El objetivo del presente estudio fué determinar la estructura y diversidad de las comunidades bacterianas totales y cultivables de la rizosfera y endosfera de OLC y OLS en Andalucía. Los resultados indican que de un total de 675 aislados bacterianos de la rizosfera y endosfera de OLS, 94 (14%) mostraron fuerte actividad antagonista *in vitro* contra el patotipo defoliante de *V. dahliae*; y en porcentaje variable presentaron actividades proteolítica (75,5%), lipolítica (78,3%), quitinolítica (58,5%), o produjeron AIA (77,7%), sideróforos (76,6%), y 2,4-diacetil-floroglucinol (6,4%). La mayoría de los aislados bacterianos fueron identificados como *Pseudomonas* y *Bacillus* spp. en base a la secuenciación del gen 16S del rDNA. Asimismo, de la rizosfera de OLS y OLC se han obtenido aislados de bacterias que desarrollan colonias con pigmentación color púrpura, cuya caracterización por secuenciación del gen 16S del rDNA y actividades APIZYM y BIOLOG indica que se tratan de tres especies bacterianas con alto potencial biotecnológico e industrial. El análisis factorial y de cluster de los patrones de FT-RFLP del gen 16S de las comunidades bacterianas totales han revelado que el OLS constituye un reservorio único de diversidad bacteriana en comparación con el OLC. Finalmente, dichos análisis han revelado que en la naturaleza de la comunidad bacteriana existe un fuerte efecto del genotipo del OLC, indicativo de que cada cultivar es capaz de promover y mantener distintos niveles de población de bacterias cultivables en su rizosfera y endosfera, y que diferentes especies/genotipos bacterianos se establecen de forma mayoritaria en la rizosfera de cada cultivar de olivo.

* Investigación subvencionada por AGL2008-00344/AGR.

PAN-194**EVALUACIÓN DEL RIESGO DE INFECCIÓN DE MILDIU, OIDIO Y BOTRITIS EN VIÑEDOS DE RIOJA ALAVESA**

Díez-Navajas, A.M., Ortiz-Barredo, A.

NEIKER-Tecnalia. Departamento de Producción y Protección Vegetal.

Apdo. 46. E-01080 Vitoria-Gasteiz. E-mail: adiez@neiker.net, aortizb@neiker.net

La Rioja Alavesa es una región situada en el sur de Álava, con una extensión de viñedo de 12.869 ha, y donde se recogen 81.325.000 kilos de uva para vinificación. Este cultivo es el motor de la economía de este área, donde las enfermedades fúngicas ocasionadas por el mildiu de la vid (*Plasmopara viticola*), oidio (*Erysiphe necator*) y botritis (*Botrytis cinerea*) pueden ocasionar grandes pérdidas de producción y de calidad de la uva, e incluso son motivo de penalización económica en la bodega receptora.

Los tratamientos fitosanitarios para prevenir o tratar estas enfermedades son frecuentemente aplicados en base a un calendario establecido por el agricultor y no en función de la presencia de un determinado patógeno en el viñedo, como ocurre especialmente con el mildiu. Esta patología se manifiesta en raras ocasiones en Rioja Alavesa debido a que las condiciones climáticas de la zona no son generalmente favorables para su desarrollo, pero se llevan a cabo tratamientos preventivos anualmente. El oidio, en cambio, se desarrolla favorablemente y las aplicaciones para su tratamiento son continuas a lo largo de cada campaña.

La aplicación de productos fitosanitarios está limitada en el tiempo por el Consejo Regulador de la D.O. Ca. Rioja en base a la fecha de vendimia establecida cada año. Esto resulta arriesgado para controlar enfermedades como la botritis que afecta altamente al racimo en el tramo final de maduración previo a la vendimia, momento en que las condiciones ambientales para su desarrollo suelen ser las óptimas.

Para evitar aplicaciones innecesarias, poco favorables para el medio ambiente y la calidad final del producto, para diseñar una estrategia de control de enfermedades fúngicas y sólo justificadas por la presencia de esporas de mildiu, oidio y botritis, y para controlar la presión infectiva de las mismas en el viñedo, pretendemos determinar el riesgo de aparición y desarrollo de estas enfermedades, mediante la utilización de sistemas predictivos de dicho riesgo, basados en parámetros registrados en cada área de estudio por estaciones agroclimáticas. Por otro lado, pretendemos evaluar y validar este riesgo en cada área mediante la colocación de trampas de captura de esporas, en paralelo a las estaciones agrometeorológicas, para determinar la presencia de esporas de las citadas enfermedades que en condiciones ambientales favorables serían capaces de iniciar una infección.

Esta información contribuirá al desarrollo de una red de avisos, favoreciendo la toma de decisiones por parte de los agricultores y técnicos.

PAN-195

**EFFECTO DE *Trichoderma harzianum* SOBRE EL DAMPING OFF
CAUSADO POR *Fusarium circinatum* SOBRE PLÁNTULAS
DE *Pinus radiata***

Martínez-Álvarez, P.; Alves-Santos, F. M.; Díez, J.J.J.

Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. ETSIIAA Palencia. Universidad de Valladolid. Avda. Madrid 57. 34004 Palencia. España. E-mail: pmtnez@pvs.uva.es

El hongo *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell es en la actualidad uno de los problemas más graves en la producción de planta forestal en España, no existiendo hasta el momento ningún tratamiento efectivo para su control. En este estudio probamos la efectividad del hongo *Trichoderma harzianum* Rifai como antagonista del patógeno, tanto *in vitro* en medio de cultivo PDA, como *in vivo* sobre semillas y plántulas de *Pinus radiata*, especie más susceptible a la enfermedad. En los ensayos se emplearon 7 aislados diferentes de *F. circinatum* y uno de *T. harzianum*, todos ellos procedentes de pino radiata de la Comunidad Autónoma de Cantabria. Para testar de manera cuantitativa el efecto del competidor sobre el patógeno *in vitro*, se calculó un coeficiente de forma de la colonia de *F. circinatum* en presencia del antagonista. Por otra parte, en el ensayo *in vivo* se emplearon un total de 2688 semillas, 84 por tratamiento. El número de esporas añadida al sustrato fue de 10^6 en el caso del patógeno, mientras que para el hongo competidor se probaron 3 dosis diferentes: 10^5 , 10^6 y 10^7 .

T. harzianum ejerció un efecto significativo sobre el crecimiento *in vitro* de *F. circinatum*. Sin embargo, en el ensayo realizado sobre las semillas y plántulas del pino, no se observó efecto alguno de *T. harzianum* sobre el desarrollo de la enfermedad. La aplicación de las esporas de *F. circinatum* redujo la germinación de las semillas de *Pinus radiata* un 20%, aunque no de forma significativa. Por el contrario, este hongo produjo una gran mortalidad sobre las plántulas ya emergidas (entre el 94,1 y el 100%). No se observaron diferencias de patogenicidad entre los 7 aislados de *F. circinatum* empleados en el ensayo, lo que posiblemente sea debido al escaso tiempo que lleva presente la enfermedad en el área de estudio.

PAN-196

INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN CÁLCICA Y POTÁSICA EN LA SUSCEPTIBILIDAD DE LA ENCINA A *Phytophthora cinnamomi*

Serrano, M.S.¹, De Vita, P.¹, Callier, P.¹, Sánchez, M.E.¹, Trapero, A.¹, Fernández-Rebollo, P.²

¹Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal) y ²Dpto. Ingeniería Forestal, Universidad de Córdoba. E-mail: ag1sahem@uco.es

El decaimiento sufrido por las especies de *Quercus* mediterráneas en el suroeste peninsular está originando una importante mortalidad de encinas y alcornoques en dehesas, debida fundamentalmente al patógeno de suelo *Phytophthora cinnamomi*, causante de podredumbre radical. Una posibilidad de control de la enfermedad consiste en la dotación a la planta susceptible de cierta tolerancia o resistencia a la infección mediante una buena nutrición mineral. Se produjeron cuatro lotes de 20 encinas (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) cada uno a partir de bellotas seleccionadas y sembradas en sustrato inerte de vermiculita. A partir de los 6 meses de edad, los lotes se regaron con i) una concentración normal de calcio y potasio (solución de Hoagland al 50%), ii) solución salina con baja concentración de calcio, iii) solución salina baja en potasio, y iv) solución con baja concentración de ambos iones. Cuatro meses más tarde se infectaron 10 plantas de cada lote con zoosporas de *P. cinnamomi* ($2,5 \times 10^3$ zoosporas ml⁻¹) dejando otras 10 plantas como testigo. Se determinó la concentración foliar de calcio y potasio de todas las plantas al final del ensayo.

Las plantas regadas con la solución de Hoagland al 50%, con la solución baja en Ca y baja en ambos iones presentaron una concentración de calcio en hoja de 0,4 p/p%, siendo superior (0,7 p/p%) en las encinas tratadas con la solución baja en K. En general, al término del experimento todas las plantas inoculadas mostraban síntomas de la enfermedad a nivel aéreo y radical, significativamente más altos que sus respectivas plantas control. Respecto a la severidad de síntomas radicales, las encinas con alto contenido en Ca no difirieron significativamente de las testigos no inoculadas y regadas con solución de Hoagland, mientras que todas las demás plantas inoculadas mostraron valores significativamente mayores.

En base a estos resultados, podemos concluir que las encinas que acumulan más calcio de lo habitual, si bien no son resistentes, presentan cierta tolerancia a la infección por *P. cinnamomi*.

PAN-197

CONTROL DE *Monilinia* spp. EN POSTCOSECHA DE FRUTA DE HUESO MEDIANTE LA APLICACIÓN DE QUITOSANO Y ÁCIDO PERACÉTICO

Sisquella, M.¹, Elmer, P.A.G.², Casals, C.³, Viñas, I.¹, Usall, J.³

¹ Universitat de Lleida, Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Avda. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida. E-mail: ivinas@tecal.udl.cat

² Plant and Food Research Ruakura, Private Bag, 3123, 3240, Hamilton, New Zealand. E-mail: philip.elmer@plantandfood.co.nz

³ IRTA, Postcollita-XaRTA, Centre UdL-IRTA, Avda. Rovira Roure, 191, 25198 Lleida. E-mail: josep.usall@irta.cat

La podredumbre parda causada por 3 especies del género *Monilinia*, *M. laxa*, *M. fructicola* y *M. fructigena*, es una de las enfermedades de postcosecha más importantes que afecta a la fruta de hueso. Habitualmente, el control de esta enfermedad se realiza mediante tratamientos con fungicidas de síntesis en precosecha ya que en la Unión Europea no existe ningún producto químico autorizado en postcosecha. En principal objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de dos productos químicos de baja toxicidad, el quitosano y el ácido peracético (PAA), en el control de *Monilinia* spp. en postcosecha de melocotones y nectarinas. Concretamente, evaluar el efecto del quitosano en el control tanto de futuras infecciones como de inóculo natural de *Monilinia* spp., así como, evaluar el efecto del ácido peracético en el control de infecciones artificiales y de inóculo natural de *Monilinia* spp.. El efecto del quitosano en el control de futuras infecciones de *M. fructicola* se evaluó en fruta herida y sin herir inoculando el patógeno después de bañar la fruta en 1% de quitosano durante 1 minuto. Cuando la fruta sin herir se bañó y se inoculó, el quitosano redujo significativamente un 78% el porcentaje de frutos podridos respecto al control. En cambio, cuando la fruta se hirió, se bañó y se inoculó, el quitosano no mostró ningún efecto preventivo. Cuando el tratamiento de quitosano se estudió para controlar el inóculo natural de *Monilinia* spp. presente en la fruta, el baño con 0.5 y 1% de quitosano durante 1 minuto no redujo más de un 35% la incidencia de podredumbre. Con lo que respecta al efecto del ácido peracético en el control de infecciones artificiales de *M. fructicola*, el tratamiento con 300 ppm de PAA aplicado durante 1 minuto redujo significativamente un 81% el porcentaje de frutos podridos con respecto al control. Cuando el PAA se aplicó para controlar inóculo natural, 50 ppm de PAA fueron suficientes para reducir la incidencia de podredumbre un 60%, incrementándose esta reducción hasta un 81% al aplicar 300 ppm. Por lo tanto, en base a los resultados obtenidos, se puede concluir que de los 2 productos estudiados, el ácido peracético es el que tiene un mayor potencial a la hora de controlar *Monilinia* spp. y sería una alternativa interesante para el control de esta enfermedad en postcosecha de fruta de hueso ya que la mayoría de las infecciones se producen antes del tratamiento.

PAN-198

**BIOFUMIGACIÓN CON *Sinapis alba* PARA EL CONTROL
DE *Phytophthora capsici* EN INVERNADEROS DEL PAÍS VASCO**

Núñez-Zofío, M.; Pérez, E.; Juaristi, B.; Garbisu, C.; Larregla, S.

NEIKER-Tecnalia. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. C/ Berreaga 1, 48160 Derio (Bizkaia). E-mail: slarregla@neiker.net

La biofumigación es una práctica eficaz para el control de patógenos edáficos que cada vez cobra más interés ante la peligrosidad que la desinfección química del suelo entraña para el medio ambiente y la salud humana. Entre los principales agentes causales de la podredumbre radicular y del cuello de plantas de pimiento en cultivos de invernadero del País Vasco destaca el hongo *Phytophthora capsici* por su gravedad y prevalencia. El objetivo del estudio fue comprobar el efecto de la biofumigación con un cultivo de *Sinapis alba* (mostaza blanca) incorporado como abono verde sobre la supervivencia de las oosporas de *P. capsici* y sobre ciertos parámetros biológicos con potencial bioindicador de la salud del suelo. Las oosporas son propágulos de resistencia que en este patógeno pueden actuar como inóculo residual en el suelo que posibilita la persistencia de enfermedad en el cultivo siguiente. Se realizó un ensayo de biofumigación en invernadero durante febrero-marzo de 2009, época compatible con el ciclo del cultivo de pimiento en la zona (abril-septiembre). La biofumigación se llevó a cabo utilizando plantas de *Sinapis alba* de la variedad Ludique crecidas en el invernadero durante 3 meses. Las plantas fueron trituradas e incorporadas al suelo como abono verde (4,5 kg.m⁻² materia fresca). Tras la incorporación, las parcelas enmendadas fueron cubiertas con plástico (polietileno transparente de 0,05 mm) durante 4 semanas. La determinación de la supervivencia de las oosporas enterradas a 15 y 30 cm de profundidad se realizó mediante la estimación de su viabilidad e infectividad. Asimismo, se determinaron parámetros biológicos (actividades enzimáticas) del suelo antes y después de la biofumigación.

La biofumigación con *S. alba* no redujo eficazmente la viabilidad de las oosporas, que fue significativamente mayor en las parcelas biofumigadas (34% de oosporas viables) que en las parcelas del testigo sin desinfectar (19%). Sin embargo, el ensayo de infectividad sobre plántulas de pimiento demostró que el desarrollo de la enfermedad, estimado a partir del cálculo del área bajo la curva de progreso de la enfermedad, fue significativamente menor en las parcelas biofumigadas (3,1) que en el testigo sin desinfectar (7,4). Las actividades enzimáticas fueron significativamente mayores en las parcelas biofumigadas que en el testigo sin desinfectar. Nuestros resultados sugieren que la aplicación de *S. alba* como abono verde puede aumentar la capacidad supresiva del suelo. Esta supresividad parece estar mediada por el aumento de la actividad microbiana del suelo, así como por la inhibición de la germinación de oosporas causada por los compuestos resultantes de la degradación de los glucosinolatos presentes en las brásicas.

* Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA RTA08-058-C03-03 y el proyecto estratégico CIPASAPI del Departamento de Medio Ambiente, Planificación Territorial, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco.

PAN-199

**BIOCONTROL DE LA VERTICILOSIS DEL PIMIENTO
CON DOS PRODUCTOS COMERCIALES BACTERIANOS
Y UN AGENTE FÚNGICO: UN ESTUDIO COMPARATIVO**

Carballeira, R., Veloso, J., Díaz, J.

Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal e Ecología, Universidade da Coruña, c/ Alejandro da Sota, 1, 15008 A Coruña E-mail: josefv@udc.es

Se ha realizado un estudio comparativo de la capacidad de control de la verticilosis en pimiento de dos productos comerciales, Astona™ y Botrybel™, consistentes en esporas de las bacterias *Bacillus pumilus* y *Bacillus velezensis*, respectivamente, y un aislado no patógeno de *Fusarium oxysporum* (Fo47). Los ensayos se llevaron a cabo en cámara de cultivo con condiciones controladas de temperatura (25 °C) y luz (fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad). Los agentes de biocontrol se aplicaron una sola vez por inmersión de las raíces en una suspensión de bacterias o esporas del hongo. A las 48 horas de este tratamiento las plantas fueron inoculadas con una suspensión de 10⁶ conidios/ml de *Verticillium dahliae*. Los síntomas de la verticilosis (el enanismo, estimado por la longitud del tallo, y las hojas marchitas) se determinaron semanalmente durante cuatro semanas. Todos los agentes de biocontrol ensayados redujeron significativamente los síntomas, pero Fo47 fue claramente el más efectivo. La colonización de la planta por *V. dahliae* se estimó por siembra de fragmentos consecutivos del tallo en medio PDA suplementado con antibióticos. Asimismo, se recogieron muestras de las raíces y el tallo 48h tras el tratamiento con el agente de biocontrol, para posteriormente ser analizadas. Se determinaron las actividades enzimáticas β-1,3-glucanasa y quitinasa de las muestras para buscar una evidencia de la inducción de la defensa de la planta por los agentes de biocontrol.

PAN-200

**TRATAMIENTO DE PLANTONES DE OLIVO CON *Trichoderma* spp.
PARA EL CONTROL DE INFECCIONES POR EL PATOTIPO DEFOLIANTE
DE *Verticillium dahliae***

Jiménez-Díaz, R.M.^{1,2}, Trapero-Casas, J.L.², Boned, J.³, Landa, B.B.², Navas-Cortés, J.A.²

¹ ETSIAM, Universidad de Córdoba, E-mail: ag1jdir@uco.es

² Instituto de Agricultura Sostenibles, CSIC; Alameda del Obispo s/n, Apdo. 4084, 14080 Córdoba, ³ISAGRO ESPAÑA, S. L., Maldonado 63, E-C, 2º I, 28006 Madrid

La Verticilosis (*Verticillium dahliae*) es la principal amenaza de la sanidad del olivo en Andalucía. La prevalencia y severidad de la enfermedad están asociadas con los cambios en el manejo del olivar y la diseminación de un patotipo defoliante (D) y altamente virulento del patógeno a través de la región. El uso de plantones certificados libres de *V. dahliae*, y la protección de su sistema radical contra la infección por inóculo residual o dispersado de fuentes cercanas, podría ser una estrategia adecuada para reducir el potencial de Verticilosis severa en árboles jóvenes y propiciaría la recuperación sintomática de la planta contribuyendo al control de la Verticilosis si no se producen nuevas infecciones de ella. Esta hipótesis se ha contrastado utilizando una formulación de *Trichoderma* spp. (Bioten®) en experimentos repetidos de inoculación con *V. dahliae* D del cv. Picual altamente susceptible, en condiciones óptimas para la enfermedad. Plantones tratados con *Trichoderma* spp. ($3,2 \times 10^6$ cfu/g raíz) se inocularon por trasplante a suelo infestado con *V. dahliae* D (2×10^6 cfu /g suelo) o por inmersión del sistema radical del plantón en una suspensión de 10^7 conidias/ml. El tratamiento con *Trichoderma* spp. redujo significativa y consistentemente la incidencia y severidad de síntomas de Verticilosis tras 2 meses de incubación a 25 °C. Subsiguientemente, plantones tratados con *Trichoderma* spp. se transplantaron en suelo solarizado en microparcelas en condiciones de campo, y su sistema radical se inoculó con *V. dahliae* D en el momento del trasplante y 1 año después de éste. Tras 2 años de desarrollo del experimento, la incidencia de Verticilosis fue de 100% en los plantones testigos y 91% en los tratados, y 33% de los plantones testigos, pero ninguno de los tratados, murieron por la infección. Sin embargo, el tratamiento redujo significativamente en 60% ($P < 0,05$) la severidad de síntomas y el área bajo la curva de progreso de la enfermedad (ABCPE). Esta reducción de la severidad de la enfermedad en el tiempo tuvo lugar aún cuando los árboles permanecieron expuestos de forma recurrente a inóculo de *V. dahliae* D en hojas infectadas caídas de árboles enfermos durante los 2 años de experimento.

PAN-201

**MICROFLORA FÚNGICA ENDOFÍTICA ASOCIADA A *Vitis vinifera*
EN EL CENTRO PENINSULAR**

González, V.¹, Tello, M. L.¹

¹Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Agroalimentario (IMIDRA-Comunidad de Madrid) Autovía A-2, Km. 38,2. Código Postal 28800, Alcalá de Henares, Madrid. E-mail: vicente.gonzalez.garcia@madrid.org

Actualmente no se conocen datos sobre la composición y el papel desempeñado por las comunidades de hongos endófitos asociadas al cultivo de la vid en España. Además, los estudios sobre la relación existente entre esta micoflora endofítica y ciertas especies patógenas de vid son aún escasos. De este modo, algunas de las patologías más importantes del cultivo son causadas por hongos que pueden permanecer durante buena parte de su ciclo vital en el interior de los tejidos vivos de la planta como saprófitos en coexistencia con verdaderos táxones endófitos, y finalmente desencadenar procesos patogénicos, como en el caso de los agentes etiológicos de la enfermedad de Petri. La presente contribución estará centrada en la caracterización de hongos endófitos asociados a las diferentes variedades y tipos de cultivo existentes en la Comunidad de Madrid. A partir de dicha biodiversidad microbiana, se ensayarán nuevos antagonistas microbianos con capacidades de protección biológica frente a agentes causales de enfermedades de madera de vid, es especial los relacionados con el decaimiento de plantas jóvenes. Durante el periodo 2008-2009, se obtuvieron un total de 500 cepas fúngicas que representaban 60-70 táxones aislados de seis localidades productoras. El análisis de la micobiota puso de manifiesto un alto grado de diversidad fúngica, tanto en términos de número de aislados como en la composición de especies según cada variedad. Al igual que para algunos de los escasos estudios sobre micoflora endofítica de vid realizados en otros países, nuestros resultados muestran que el grupo de los ascomicetos y hongos mitospóricos representan los contingentes principales de diversidad asociada. En líneas generales, la abundancia y composición de especies no difiere de manera significativa entre las distintas variedades vitivinícolas prospectadas, y existe un claro predominio de táxones específicos de vid aislados repetidamente, frente a táxones endófitos generalistas, lo que indica la presencia de una micoflora característica del cultivo. Finalmente y como cabía esperar, algunos de los géneros aislados son referidos habitualmente como agentes de biocontrol, lo que les convierte en candidatos potenciales para estudios sobre antagonismo microbiano sobre agentes etiológicos de enfermedades de vid. Ensayos preliminares en laboratorio han mostrado actividad antagonista de algunas cepas frente a especies patógenas. Algunos de estos géneros son *Acremonium*, *Phoma* (*P. glomerata*) o *Chaetomium* (*Ch. globosum*).

* El presente trabajo sido financiado por el proyecto FP08-AL02 (IMIDRA-Comunidad de Madrid).

PAN-202

EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE FUNGICIDAS EN UNA VARIEDAD LOCAL DE GARBANZO (*Cicer arietinum* L.) EN LEÓN

Valenciano, J.B., Boto, J.A., Marcelo, V., Reinoso, B.

Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad de León. Avda. Portugal 41. 24071 León. E-mail: joseb.valenciano@unileon.es

España continúa siendo el principal productor de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Europa a pesar del descenso en su cultivo, ocupando León un lugar destacado. Knights et al. (2007) citan como una de las posibles causas de este descenso la incidencia de enfermedades. Entre ellas, la marchitez vascular y las podredumbres radiculares, especialmente la primera, pueden limitar su cultivo pues causan enormes pérdidas. Su control se debe basar, principalmente, en medidas culturales y en resistencia y/o tolerancia, pero cuando se detecta el problema en el cultivo la utilización de fungicidas parece convertirse en una solución. Este trabajo fue desarrollado en la provincia de León en 2008 en parcelas con antecedentes de dichas enfermedades, utilizando una variedad local de garbanzo, para conocer si la aplicación de distintos fungicidas [Quinosol (Q), Metil-tiofanato (Mt) e Himexazol (H)], aplicados en prefloración, podía aportar resultados positivos. El diseño utilizado fue de parcelas subdivididas con cuatro repeticiones, el factor principal constó de cinco tratamientos (Blanco, Q aplicado vía foliar, Q aplicado al suelo en la zona del cuello, Q + Mt aplicado vía foliar, Q + Mt aplicado al suelo en la zona del cuello) y el secundario de dos (Blanco y H). El tamaño de la subparcela fue de 38,5 m². Durante el cultivo las plantas afectadas fueron recogidas, detectándose en todas ellas *Fusarium* sp. Al final del ciclo del cultivo se contaron el número de plantas existentes en cada subparcela y se recogieron ocho grupos de diez plantas en cada una para obtener, a partir de ellas, los componentes del rendimiento y el rendimiento. El análisis del número de plantas a la cosecha permitió obtener, sólo, diferencias bajamente significativas ($P < 0,10$) para el factor principal, siendo el tratamiento Q + Mt aplicado vía foliar el que presentó mayor número de plantas y el testigo el menor. No hubo diferencias para el factor secundario, ni interacciones entre ambos factores. No se detectaron diferencias significativas para los componentes del rendimiento y el rendimiento en ningún nivel. Por ello la aplicación de fungicidas, aunque permitió obtener mayor número de plantas por parcela, no incrementó la producción. El garbanzo incrementó la producción por planta al disminuir la densidad, la competencia entre plantas disminuye para compensar la producción.

Knights, E.J., Açıkgöz, N., Warkentin, T., Bejjga, G., Yadav, S.S., Sandhu, J.S., 2007. Area, production and distribution. En: Yadav, S.S., Redden, R., Chen, W., Sharma, B., (Eds.), Chickpea breeding and management. CAB International, Wallingford, Oxon, UK. pp. 167-178.

PAN-203

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE FUNGICIDAS
PARA EL CONTROL DE *Fusarium circinatum***

Ramón-Albalat, A., Berbegal, M., Pérez-Sierra, A., García-Jiménez, J., Armengol, J.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, E-mail: jarmengo@eaf.upv.es

Para valorar el efecto *in vitro* de fungicidas en el control de *Fusarium circinatum*, agente causal del chancro resinoso de los pinos, se utilizaron las técnicas de germinación de conidios en medio líquido y crecimiento micelial en medio sólido. Se evaluaron 16 fungicidas (clortalonil, imazalil, tebuconazol, metiltiofanato, didecildimetil cloruro amónico, tiram, ciazofamida, oxiclورو de cobre, ciprodinil, quinoxifen, fludioxonil, fempropimorf, piraclostrobin, captan, mancozeb y fluazinam) a las siguientes concentraciones: 0,1, 1, 10 y 100 mg de materia activa L⁻¹. Para la técnica de germinación de conidios se prepararon suspensiones de conidios (2 x 10⁵ conidios mL⁻¹) de cuatro aislados (dos por cada grupo de apareamiento de *F. circinatum*: MAT-1 y MAT-2), y se expusieron a cada una de las concentraciones de las diferentes materias activas seleccionadas. Al cabo de 24 horas se registró el número de conidios germinados, que se expresó como porcentaje de germinación respecto al control. El efecto de los fungicidas sobre el crecimiento micelial se evaluó en medio PDA. Para ello las diferentes dosis de las materias activas se incorporaron al medio de cultivo en el momento de su preparación. Posteriormente, en el centro de las placas se sembraron discos de micelio de cada uno de los cuatro aislados de ambas especies. Al cabo de 10 días se registró el diámetro de crecimiento de las colonias y se estimó el porcentaje del ratio de crecimiento diario respecto al control. Para comparar la efectividad de los diferentes fungicidas se calculó la concentración efectiva 50 (CE 50) construyendo rectas de regresión con los datos obtenidos aplicando la transformación Probit a los porcentajes de control, y el logaritmo decimal a las concentraciones evaluadas. Los fungicidas captan, didecildimetil cloruro amónico, fluazinam, mancozeb, oxiclورو de cobre, piraclostrobin y tiram, inhibieron la germinación de los conidios de *F. circinatum* a niveles muy satisfactorios, mientras que los que mostraron un mejor efecto en la reducción del crecimiento micelial fueron fluazinam, imazalil, piraclostrobin y tebuconazol.

PAN-204

**EVALUACIÓN *IN VITRO* DE FUNGICIDAS
PARA EL CONTROL DE *Fusicladium eriobotryae***

Rodríguez-Reina, J. M., Berbegal, M., Armengol, J., García-Jiménez, J.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. E-mail: jgarciaj@eaf.upv.es

El moteado del níspero causado por *Fusicladium eriobotryae* es la principal enfermedad de este cultivo. Debido a las restricciones en el uso de fitosanitarios, así como a la aparición de resistencias a causa de la presión de los tratamientos es necesario evaluar nuevas materias activas para el control de este patógeno. Se ha realizado un estudio *in vitro* de fungicidas mediante las técnicas de germinación de conidios en medio líquido y crecimiento miceliar en medio sólido. Se evaluaron 10 fungicidas (captan, mancozeb, difenoconazol, metiltiofanato, trifloxistrobin, clortalonil, oxiclورو de cobre, didecildimetil cloruro amónico, fenhexamida y flusilazol) a las siguientes concentraciones: 0,1, 1, 10 y 100 mg de materia activa L⁻¹. Para la técnica de germinación de conidios se prepararon suspensiones de conidios (5 x 10⁴ conidios mL⁻¹) de cuatro aislados, y se expusieron a cada una de las concentraciones de las diferentes materias activas seleccionadas, incubándose a 21 °C. Al cabo de 48 horas se registró el número de conidios germinados, que se expresó como porcentaje de germinación respecto al control. El efecto de los fungicidas sobre el crecimiento miceliar se evaluó en medio PDA a 25 °C. Para ello las diferentes dosis de las materias activas se incorporaron al medio de cultivo en el momento de su preparación. Posteriormente, en el centro de las placas se sembraron discos de micelio de cada uno de los cuatro aislados. Al cabo de 10 días se registró el diámetro de crecimiento de las colonias y se estimó el porcentaje del ratio de crecimiento diario respecto al control. Para comparar la efectividad de los diferentes fungicidas se calculó la concentración efectiva 50 (CE 50) construyendo rectas de regresión con los datos obtenidos aplicando la transformación Probit a los porcentajes de control, y el logaritmo decimal a las concentraciones evaluadas. Los fungicidas trifloxistrobin, captan, mancozeb y didecildimetil cloruro amónico, inhibieron la germinación de los conidios de *F. eriobotryae* a niveles muy satisfactorios, mientras que los que mostraron un mejor efecto en la reducción del crecimiento miceliar fueron flusilazol, difenoconazol, metiltiofanato y didecildimetil cloruro amónico.

PAN-205

**TRATAMIENTOS POR TERMOTERAPIA CON AGUA CALIENTE
PARA EL CONTROL DE *Fusarium circinatum*
EN SEMILLAS DE *Pinus radiata***

Agustí-Brisach, C.¹, Pérez-Sierra, A.¹, Berbegal, M.¹, Aguado-Ortega, A.², Iglesias-Sauce, S.³, Armengol, J.¹, García-Jiménez, J.¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. E-mail: caragbri@upvnet.upv.es

² Dirección General Medio Natural y Política Forestal, C/ Joaquín Ballester 39, 46009, Valencia

³ Dirección General Medio Natural y Política Forestal, C/ Ríos Rosas 24, 28071, Madrid

F. circinatum es un hongo que afecta a diferentes especies de *Pinus*, siendo *P. radiata* la más sensible, y a *Pseudotsuga menziesii*. Debido a que se transmite por semilla y ante la dificultad de su control mediante métodos convencionales, se pretende estudiar dicho control mediante tratamientos con agua caliente. El primer objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento con agua caliente sobre la germinación de semillas de *P. radiata* a las temperaturas de 50, 51, 52, 53 y 54 °C durante 30 ó 45 min. El porcentaje de germinación fue del 90% para el control, disminuyendo progresivamente con el incremento de la temperatura y el tiempo de tratamiento. Para los tratamientos realizados a 50 °C, tanto a 30 como a 45 min., el porcentaje de germinación disminuyó hasta el 80%, alcanzando valores en torno al 55% y al 40% a 54 °C para 30 y 45 min., respectivamente. El segundo objetivo fue evaluar el efecto del tratamiento con agua caliente sobre la germinación de conidios y el crecimiento micelial de cuatro aislados de *F. circinatum* pertenecientes a los grupos de apareamiento *MAT-1* y *MAT-2* a las temperaturas de 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 y 54 °C durante 30 ó 45 min. Los resultados mostraron una disminución de la germinación de conidios y del crecimiento micelial con el aumento de la temperatura y el tiempo de tratamiento. Se observaron diferencias en el comportamiento de los aislados en función del grupo de apareamiento al que pertenecen. Los conidios no germinaron a partir de 49 °C para los aislados del *MAT-2*, mientras que los aislados del *MAT-1* toleraron temperaturas de hasta 52-53 °C, aunque los porcentajes de germinación fueron muy bajos. No se obtuvo crecimiento micelial por encima de 50 y 51 °C para los aislados del *MAT-2* y *MAT-1*, respectivamente. Finalmente, se aplicó un tratamiento con agua caliente a un lote de semillas de *P. radiata* naturalmente infectadas a las temperaturas de 50, 51, 52 y 53 °C durante 30 ó 45 min. Las semillas control y las tratadas se sembraron en medio de cultivo Komada. El porcentaje de infección de las semillas control con *F. circinatum* fue superior al 70%, mientras que en los lotes de semillas tratadas sólo se observó el 1% de infección en los tratamientos a 50 °C-30 min., 50 °C-45 min. y a 52 °C-45 min. Estos resultados muestran el potencial del tratamiento por termoterapia con agua caliente como medida eficaz para el control de *F. circinatum* en semillas de *P. radiata*.

PAN-206

EFICACIA DE ENMIENDAS ORGÁNICAS, TEMPERATURA DEL SUELO Y CULTIVARES EN EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE RAÍCES Y CUELLO DE ESPÁRRAGO

Borrego-Benjumea, A.¹, Basallote-Ureba, M.J.², Melero-Vara, J. M.¹

¹ IAS, CSIC, Apdo. 4084, 14080 Córdoba

² IFAPA Las Torres-Tomejil, Apdo. Oficial, 41200 Alcalá del Río (Sevilla)

La Podredumbre de raíces y cuello causada por *Fusarium* spp. es una de las principales enfermedades del espárrago con importancia económica mundial.

Se infestaron sustratos arena:limo (2:1, v/v) con *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* (*Foa5*), *F. solani* (*Fs2*) y *F. proliferatum* (*Fp3*), agentes causales de la Podredumbre de raíces y cuello de espárrago, a las que se aportaron las enmiendas orgánicas: gallinaza fresca (GA) o pellet de gallinaza (PE) al 1 y al 2%, o alpeorajo (AL) al 3 y al 6%. Se incubaron alícuotas de 45 g a 30 ó 35 °C en oscuridad durante 15, 30 y 45 días, de las que se distribuyeron diluciones seriadas en placas con un medio selectivo al inicio del experimento y, tras su incubación, se evaluó la viabilidad del inóculo. Luego se añadió cada alícuota, individualmente, en alvéolos con 300 ml de sustrato arena: turba (1:1, v/v), donde se plantaron plántulas de espárrago de los cvs Grande, Dariana y Plasenssp, con distinta susceptibilidad a *Fusarium* spp. Se incubaron las plantas en un invernadero durante tres meses, evaluándose el control de la enfermedad por el desarrollo de los síntomas en raíces y el peso fresco final de las plantas.

La viabilidad de los propágulos de *Fusarium* spp. se redujo en más del 90% con PE-2% y 1%, a ambas temperaturas y periodos de incubación (salvo para *Fp3* a 30 °C a los 15 d) y a los 30 ó 45 días, respectivamente. GA o AL, a cualquiera de las dosis, redujeron la viabilidad en más del 87% sólo cuando la incubación se realizó a 35 °C. Independientemente de las dosis de las enmiendas evaluadas, la severidad de síntomas en raíces disminuyó más del 47, 37 y 9% en cvs. Grande, Dariana y Plasenssp, respectivamente, cuando se aplicaron GA o PE al suelo infestado con *Foa5* y se incubó a 30 °C durante 45 días. Al aplicar GA o AL a suelos infestados con *Fs2*, e incubarlos a 30 °C durante 30 días, la severidad disminuyó en más de un 43, 38 y 46% en dichos cultivares, en tanto que en suelos infestados con *Fp3* e incubados a 35 °C durante 15 días, tras la aplicación de AL, las reducciones de severidad superaron el 58, 17 y 50%, respectivamente. El mayor incremento del peso fresco (>64%) se observó con GA-1% en el cv. Grande, cuando el suelo se había infestado con *Foa5*, independientemente del periodo de incubación a 30 °C. En dicho cultivar, cuando la incubación se realizó a 35 °C durante 15 días, todas las enmiendas, independientemente de las dosis utilizadas, incrementaron los pesos frescos respecto del testigo no enmendado.

La disminución de los niveles de la enfermedad y los incrementos del peso fresco de las plantas, no siempre se correspondieron con la reducción de la viabilidad de los propágulos de *Fusarium* spp. La eficacia de las enmiendas orgánicas varió notablemente en función de la temperatura, del periodo de incubación, del aislado de *Fusarium* y del cultivar de espárrago.

PAN-207

**CONTROL INTEGRADO DE LA MARCHITEZ VASCULAR
(*Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*) EN CLAVEL**

Nava, R. A. y Melero-Vara, J. M.

Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Córdoba E-mail: anava@ipn.mx

Entre las enfermedades más importantes del clavel se encuentra la Marchitez Vasculosa (MV) inducida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (FOD). Se evaluó el efecto conjunto de diferentes enmiendas orgánicas (EO) (alpeorajo, gallinaza, pellet de gallinaza, orujo de vid), y la solarización del suelo con película VIF (SS), así como la preinoculación de plantas con dos aislados de *Fusarium* no patogénicos (FNP37 y 116). El ensayo se llevó a cabo en cámara climática ajustada a 24 °C ± 2 con un fotoperiodo de 12 h, utilizado tres aislados FOD, (1.1A y 2.2J, de raza 1, y A3 de raza 2), y las enmiendas con y sin SS, excepto pellet, que se aportó sólo sin VIF. Las mezclas de arena-limo-turba (2:1:1), infestadas con cada aislado de FOD se colocaron en contenedores de 50 L, se regaron a capacidad de campo antes de cubrirse con plástico y se incubaron por 4 semanas en un invernadero cerrado, registrándose temperaturas máximas del suelo con gallinaza de 46.9 °C, que aumentó hasta 48.5 °C para gallinaza+SS, en contraste con la máxima de 42.5 °C tanto para el testigo como para SS; en todos estos casos, la temperatura mínima fue de 24-25.2 °C. Transcurrido este tiempo se airearon por 10 días previo al llenado de macetas (1L). Las raíces de los esquejes de clavel (cv. Activa, susceptible a FOD) fueron sumergidas por 30 min en suspensiones de los FNP antes del trasplante a las macetas. Se utilizó un diseño trifactorial, completamente al azar, con cinco repeticiones, y el experimento fue repetido una vez. Se evaluaron las plantas utilizando una escala de severidad de síntomas de 0 a 5 a lo largo de 4.5 meses.

Los aislados de FOD 2.2J y 1.1A causaron mayor severidad que A3 desde los 3 meses de la inoculación hasta el final del experimento. Las enmiendas más eficaces en controlar MV fueron alpeorajo+SS, gallinaza y gallinaza+SS. Los tratamientos resultantes en menor área bajo la curva de severidad (ABCS) fueron gallinaza solarizada o no, y alpeorajo+SS y orujo+SS. La interacción EO x FNP resultó en mejor control, significativo en ambos experimentos, cuando se combinó la gallinaza con cualquiera de los FNP, así como alpeorajo+SS y gallinaza+SS con FNP37. Asimismo fue significativa la interacción EO x FOD, siendo gallinaza con cualquiera de los FOD, alpeorajo+SS con A3 y 2.2J, Gallinaza+SS y orujo+SS, ambos con A3, y SS sin EO con 1.1A, las combinaciones de tratamientos con menores ABCS.

PAN-208

**CONTROL DEL OIDIO (*Podosphaera aphanis*) DEL FRESÓN
(*Fragaria x ananassa* D.) EN CAMPOS DE HUELVA MEDIANTE
EL USO DE DE BIOPESTICIDAS Y BIOFERTILIZANTES**

Ortega, J.¹, de los Santos, B.¹, Romero, F.¹

¹ Centro IFAPA Las Torres-Tomejil, Ctra Sevilla-Cazalla km 12,2 Alcalá del Río (Sevilla) C.P.: 41200. balbilis@hotmail.com

Una de las enfermedades fúngicas de dispersión aérea más importantes que afecta al cultivo de la fresa es el oidio, ocasionada por *Podosphaera aphanis*. El patógeno infecta los órganos aéreos de las plantas, reduciendo los rendimientos de cosecha y haciendo que el fruto afectado sea inviable para la comercialización. Muchas de las medidas de control utilizadas tienen una reducida eficacia, estando en la actualidad restringido su uso. Se hace pues, necesaria, la búsqueda de alternativas que sean capaces de coordinar la productividad con el respeto al medio ambiente y la salud humana. Entre estas alternativas se encuentran los extractos de plantas. Se realizaron ensayos de campo en parcelas experimentales situadas en Moguer (Huelva) para determinar la eficacia de una serie de extractos de plantas en su formulación comercial en el control del oidio y se comparó con aplicaciones de fungicidas químicos utilizados en el Protocolo de Producción Integrada en Fresa en Andalucía. El periodo de estudio comprendió desde octubre a mayo en tres años consecutivos. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Se utilizaron plantas de fresa del cultivar 'Camarosa'. Se testó la eficacia en el control de oidio en fresa de cuatro compuestos de origen vegetal, un extracto de canela (EXCa), extracto de semillas de cítricos (EXCi), extracto de *Mimosa tenuiflora* (EXM), extracto de poda de olivo (EXO) y de un inductor de defensa (BTX). En las parcelas control se aplicaron tratamientos con productos químicos de síntesis utilizados en la producción integrada (PI). Los tratamientos con los distintos compuestos fueron aplicados siguiendo dos estrategias diferentes: inmersión de la planta completa, durante 5 minutos, antes de la plantación, seguida de aplicaciones foliares a lo largo de la campaña (I+AF), o sólo aplicaciones foliares, iniciadas a los 20 días de la plantación (AF). Cuando la incidencia de oidio en fruto es baja, los tratamientos experimentales son tan eficaces como el tratamiento control, observándose como en plantas tratadas mediante aplicaciones I+AF la incidencia de oidio en fruto es inferior a la que presentan plantas tratadas mediante aplicaciones foliares. Durante el segundo y tercer año de campaña, la incidencia de oidio en fruto fue significativamente inferior en plantas tratadas mediante el esquema habitual en PI, no observándose diferencias significativas por la forma de aplicación de tratamientos.

PAN-209

**CONTROL DE LA PODREDUMBRE GRIS (*Botrytis cinerea*)
DEL FRESÓN (*Fragaria x ananassa* D.) EN CAMPOS DE HUELVA
MEDIANTE EL USO DE DE BIOPESTICIDAS Y BIOFERTILIZANTES**

Ortega, J.¹, de los Santos, B.¹, Romero, F.¹

¹ Centro IFAPA Las Torres-Tomejil, Ctra Sevilla-Cazalla km 12,2 Alcalá del Río (Sevilla) C.P.: 41200. E-mail: balbilis@hotmail.com

La podredumbre gris es una importante enfermedad de la fresa cultivada (*Fragaria xananassa* D.). Esta causada por *Botrytis cinerea*, patógeno generalista que afecta a multitud de cultivos en todo el mundo. Muchas de las medidas de control utilizadas tienen una reducida eficacia, mientras que los fungicidas tradicionales causan diversos daños medioambientales y humanos estando actualmente su uso cada vez más restringido. Se hace pues, necesaria, la búsqueda de alternativas que sean capaces de coordinar la productividad con el respeto al medio ambiente y la salud humana. Entre estas alternativas se encuentran los extractos de plantas. Se realizaron ensayos de campo en parcelas experimentales situadas Moguer (Huelva) para determinar la eficacia de una serie de extractos de plantas en su formulación comercial en el control de podredumbre gris y se comparó con aplicaciones de fungicidas químicos utilizados en producción integrada. El periodo de estudio comprendió desde octubre a mayo en tres años consecutivos. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Se utilizaron plantas de fresa del cultivar 'Camarosa'. Se testó la eficacia en el control de podredumbre gris en fruto de fresa de cuatro compuestos de origen vegetal, un extracto de canela (EXCa), extracto de semillas de cítricos (EXCi), extracto de mimosa tenuiflora (EXM), extracto de poda de olivo (EXO) y de un inductor de defensa (BTX). En las parcelas control se aplicaron tratamientos con productos químicos de síntesis, siguiendo las recomendaciones del programa de manejo de Producción Integrada de Andalucía para el cultivo de la fresa. Los tratamientos con los distintos compuestos fueron aplicados siguiendo dos estrategias diferentes: inmersión de la planta completa, durante 5 minutos, antes de la plantación, seguida de aplicaciones foliares a lo largo de la campaña (I+AF), o sólo aplicaciones foliares, iniciadas a los 20 días de la plantación (AF). Los tratamientos experimentales resultaron tan eficaces en el control de podredumbre gris como el control, con fungicidas convencionales, observándose un menor porcentaje de frutos afectados en plantas tratadas con EXCi mediante aplicación I+AF, en los periodos tempranos de los tres años en estudio. Las aplicaciones realizadas mediante inmersión de la planta, son significativamente más efectivas que sólo las aplicaciones foliares, al menos durante el periodo temprano, lo que indicaría su eficacia, al eliminar parte del inóculo potencial del patógeno, presente en el material vegetal

PAN-210

**RESISTENCIA A FUNGICIDAS EN *Podospaera fusca*
EN EL SUR DE ESPAÑA**

Bellón, D.¹, Sánchez-Pulido, J. M.¹, Jousseume, C.², Pérez-García, A.¹, Torés, J.A.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC). E-mail: davinia@eelm.csic.es

² Dow AgroSciences Iberica S.A., Madrid. E-mail: cjousseume@dow.com

En España el cultivo de las cucurbitáceas es de especial interés por su gran extensión e importancia económica. El oídio de las cucurbitáceas, *Podospaera fusca*, es uno de los principales problemas que afectan a estos cultivos en todo el mundo, tanto en explotaciones al aire libre como en invernadero. Como la mayoría de los oídios, *P. fusca* es un ectoparásito, lo cual favorece el uso de fungicidas como principal estrategia de control, ya que entran fácilmente en contacto con el micelio del mismo.

Desgraciadamente, el empleo excesivo de fungicidas conlleva el importante problema de desarrollo de resistencias por parte de los patógenos, especialmente frente a productos con dianas muy específicas. Aunque se han dedicado grandes esfuerzos a los programas de control del oídio, los agricultores todavía tienen importantes problemas con la enfermedad. En trabajos previos de nuestro grupo se describieron importantes niveles de resistencia a fungicidas Qol y DMI (grupos de fungicidas más comunes empleados contra el oídio de las cucurbitáceas) en diferentes localizaciones del sur de España. Para explorar la eficacia de otras materias activas autorizadas, tratamos de determinar posibles cambios en la sensibilidad a fungicidas tales como quinoxifén, bupirimato y metil-tiofanato en las poblaciones de *P. fusca*.

Para ello se seleccionó una colección de aislados de *P. fusca* (2002-2004) previamente caracterizados a Qol y DMI, mantenidos congelados en nuestro laboratorio. Además en el año 2009 se recogieron aislados de cultivos tratados repetidamente con quinoxifén, para determinar los posibles cambios en la sensibilidad y poder analizar la evolución de la misma. Utilizando la técnica de discos de cotiledón, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para los fungicidas mencionados anteriormente.

Para el quinoxifén estos valores oscilaron entre 1-20 µg/ml en ambos grupos de aislados, lo que indica que quinoxifén es una buena alternativa para el control del oídio de las cucurbitáceas en España,

Para el bupirimato y metil-tiofanato, las CMI variaron entre 10 y 1000 µg/ml, diferenciándose claramente dos grupos de aislados, sensibles y resistentes. A estos fungicidas se han detectado considerables niveles de resistencia, por lo que deben usarse con precaución.

PAN-211

ESTUDIO DE LA MICOFLORA ASOCIADA A PLANTACIONES DE *Pinus radiata* AFECTADAS POR LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO RESINOSO DEL PINO (*Fusarium circinatum*)

Martínez-Álvarez, P.¹; Blanco, J.²; De Vallejo, M.²; Alves-Santos, F. M.¹; Díez, J.J.J.¹

¹ Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. ETSIIAA Palencia. Universidad de Valladolid. Avda. Madrid 57. 34004 Palencia. E-mail: pmtnez@pvs.uva.es

² Sección de Producción y Mejora Forestal. Servicio de Montes. Dirección General de Biodiversidad. Gobierno de Cantabria. C/ Rodríguez n.º 5 1º. 39071 Santander

Desde que en el año 2004 se detectara por primera vez al causante de la enfermedad del chancro resinoso del pino (*Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell), gran parte de las plantaciones de pino radiata del norte de la península ibérica se han visto afectadas. En este estudio se tomaron muestras de material vegetal de distintas partes del árbol (acículas, ramillos, corteza, xilema, piñas y semillas) en un total de 11 plantaciones distribuidas por la Comunidad Autónoma de Cantabria. El objetivo era aislar tanto al patógeno como al resto de especies fúngicas que se encuentran en el tejido vegetal, determinando además su distribución en el árbol. Entre todo el material examinado, se encontraron un total de 22 especies de hongos diferentes. Aquellos que mostraron una mayor frecuencia de aparición (aproximadamente en el 15% del material vegetal) fueron, además de *Fusarium circinatum*, *Pestalotiopsis funerea* (Desm.) Stayaert y *Epithyrium resinae* Sacc. & Berl. Algunos de los hongos endófitos aparecidos en este estudio, tales como *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud, *Gliocladium roseum* (Link) Bainier, *Paecilomyces* Bain, *Penicillium* Link, *Sordaria fimicola* (Rob. Ex Desm.) Ces & De Not., y sobre todo *Trichoderma harzianum* Rifai, han sido descritos con anterioridad como antagonistas de otros patógenos, y son por tanto potenciales candidatos a controladores biológicos de la enfermedad del chancro resinoso del pino. Por otra parte, se encontraron diferencias en la frecuencia de aparición de los hongos en función de los diferentes tejidos muestreados (p-valor=0,002). El xilema fue el material vegetal del que mayor número de especies fúngicas se aisló, siendo además el que más aislados del patógeno proporcionó.

PAN-212**PRODUCTOS NATURALES PARA EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE DE CORONA DEL PLÁTANO EN CANARIAS**

Dorta, E., Lobo, G.M., Hernández, J.M.

Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Dpto. de Protección Vegetal. Apdo. 60. La Laguna. Tenerife. Canarias

El plátano es el primer cultivo de Canarias. La podredumbre de corona producida por un complejo de especies fúngicas sigue siendo la enfermedad postcosecha más grave. La exigencia de los consumidores de fruta libre de pesticidas y la restrictiva Legislación Fitosanitaria Europea hace necesaria la búsqueda de tratamientos alternativos.

Ante la demanda del sector, se realizaron ensayos *in vitro* en *in vivo* para probar la eficacia de los extractos de canela, tomillo rojo, semillas de cítricos, de ácidos orgánicos de cítricos y de hipoclorito sódico frente a 8 aislados fúngicos de podredumbre de corona. Como fungicida autorizado de referencia se incluyó el Imazalyl. El ensayo *in vitro* se hizo siguiendo la técnica de dilución en placa probándose por cada producto las dosis (máxima y mínima) recomendadas. Los resultados se expresaron como eficacia o porcentaje de reducción del crecimiento lineal (diámetro) de las colonias a los 7 días. En el ensayo *in vivo* se hizo una simulación del proceso de comercialización y transporte. La fruta fue inoculada con una suspensión de esporas de las ocho especies fúngicas y se trató con la dosis de cada producto que había sido más eficaz en los ensayos *in vivo*. Se estudiaron, entre otras, las variables porcentaje de micelio y avance en corona en cada tiempo del proceso (8, 12 y 14 días después de los tratamientos).

La mayoría de los productos presentaron *in vitro* diferencias significativas entre dosis para casi todas las especies, excepto el Imazalyl, y en general, mayor eficacia a la dosis máxima. Frente a esta dosis del Imazalyl, el extracto de canela fue igual de eficaz en todas las especies y superior frente a *Geotrichum sp.*; el extracto de tomillo lo fue en 5 especies y el extracto de semillas de cítricos, en 3 de las especies. Los ácidos orgánicos de semillas de cítricos no lo fueron en ninguna de las 8 especies. En los ensayos *in vivo* de simulación del transporte y comercialización se obtuvieron resultados para porcentaje de micelio y avance de la enfermedad no concordantes con los obtenidos en los ensayos *in vitro*. Posiblemente, en condiciones de inóculo de campo y con dosis más altas para algunos productos, estos extractos de naturales podrían ser una alternativa al uso de productos químicos.

PAN-213

EFFECTO *IN VITRO* DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS, EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITES ESENCIALES SOBRE *Verticillium dahliae*

Adem, M., Roca, L.F., López-Escudero, F.J., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071-Córdoba. E-mail: ag3rocal@uco.es

La Verticilosis del olivo, por su gravedad y extensión, es la enfermedad que mayor pérdida económica origina en el olivar en la actualidad. El manejo de esta enfermedad se basa en la aplicación de diversas medidas dentro de una estrategia integrada, si bien el control químico ha resultado hasta el momento inefectivo. Una de las posibles alternativas a éste, con mínimo impacto ambiental y de gran interés, especialmente en los sistemas de producción integrada y ecológica, es la utilización de microorganismos antagonistas o de productos de origen biológico. El objetivo de este trabajo ha sido la evaluación *in vitro*, sobre el crecimiento micelial y sobre los microsclerocios (MS) del patógeno, de 9 productos comerciales de origen biológico, 15 aceites esenciales de origen vegetal y 19 extractos vegetales. Para ello, cilindros de 5 mm. de diámetro obtenidos de colonias con 6 días de crecimiento en PDA de dos aislados de *V. dahliae* (V117, defoliante, y V4, no defoliante), se depositaron en el centro de placas de PDA adicionado con concentraciones de 5000, 500, 50 y 5 ppm de los compuestos a evaluar. Las placas se incubaron a 24 °C en oscuridad, y el crecimiento de la colonia se midió cada 7 días durante un mes, a fin de determinar la inhibición relativa del crecimiento causada por los compuestos. Se comprobó la acción fungicida o fungistática de los compuestos evaluados, mediante transferencia de los cilindros miceliares procedentes de las placas donde no se observó crecimiento, a nuevas placas de PDA. Los productos que inhibieron el crecimiento en placa fueron evaluados por su efecto para reducir la población del patógeno en suelo naturalmente infestado, empleando un suelo con una densidad de inóculo de 28 MS/g de suelo. Los productos se aplicaron a una dosis de 5000 ppm. 100 ml de cada producto se añadieron sobre una muestra de 80 g de suelo, contenida en un recipiente con fondo perforado para permitir la percolación del sobrante, hasta quedar el suelo a capacidad de campo. Tras 24 h de incubación, el suelo se secó a temperatura ambiente durante 3 días. Se determinó la concentración de MS del patógeno mediante tamizado húmedo en medio semiselectivo de Agar Polipectato Sódico Modificado. Se incluyeron 3 repeticiones por combinación experimental. Cuatro productos comerciales a base de extractos de cítricos y tomillo, el propolis y los aceites esenciales de *Verbena* sp. y *Satureja* sp. inhibieron el crecimiento en placa a la dosis más alta establecida. Ninguno de los productos evaluados mostró efecto sobre los MS del patógeno en el suelo.

PAN-214

**EVALUACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES Y ACEITES ESENCIALES
CONTRA EL REPILO DEL OLIVO CAUSADO
POR *Fusicladium oleagineum***

Roca, L.F.; Horchani, H., Luna, D., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071-Córdoba. E-mail: ag3rocal@uco.es

El Repilo es la enfermedad foliar más importante del olivo, debido a la intensa defoliación causada en los árboles afectados, con el consiguiente debilitamiento y reducción del rendimiento. Tradicionalmente, el control se ha llevado a cabo principalmente con productos cúpricos, debido a su elevada eficacia y persistencia. En la actualidad, la mayor concienciación ambiental y la tendencia a la reducción de la cantidad de cobre aplicada por ha y año, han motivado la búsqueda de alternativas a dichos productos. Entre las alternativas para el control de las micosis foliares destacan los extractos y aceites esenciales de origen vegetal. El objetivo del presente trabajo ha sido la evaluación de extractos vegetales, tanto comerciales como preparados en el laboratorio, y de aceites esenciales, frente al Repilo del olivo causado por *F. oleagineum*. Para ello, se inocularon plantones del cultivar susceptible Picual con una suspensión conidial del patógeno (10^5 con/ml), en condiciones controladas. Los extractos y aceites esenciales evaluados se aplicaron antes y después de la inoculación, con el fin de observar el efecto preventivo y curativo de los mismos. Las dosis utilizadas fueron del 5 y 0,5% para extractos y aceites, respectivamente, siendo los aceites suspendidos previamente en una solución de Tween 20 al 0.08%. Plantones sin tratar y plantones tratados con sulfato de cobre se incluyeron como testigos. La evaluación de la enfermedad se realizó atendiendo a los parámetros de incidencia y severidad de la misma, definidos como número de hojas afectadas por plantón y superficie foliar afectada, respectivamente. A partir de dichos parámetros se calculó el Índice de Enfermedad (I.E.). El extracto de hojas de olivo del cultivar Frantoio, resistente al Repilo, mostró un efecto preventivo significativo, reduciendo el I.E. en un 40%, mientras que los extractos de *Inula viscosa* y *Pistacia lentiscus* mostraron efecto curativo, con reducciones de dicho parámetro del 63 y 44% respectivamente. También los extractos de *Sambucus* sp. y *Rosmarinus* sp. redujeron significativamente el I.E. Por el contrario, ninguno de los aceites evaluados logró reducciones significativas de la enfermedad. Los aceites de *Laurus* sp. y *Pinus* sp., que fueron los más efectivos, solo redujeron el I.E. en un 29 y 18%, respectivamente. El sulfato de cobre, incluido a modo de referencia en todos los experimentos realizados, logró una reducción media de la enfermedad superior al 90%.

PAN-215

**EFFECTO DE LA BIOFUMIGACIÓN CON ESPECIES DE *Brassica*
Y TEMPERATURAS DIARIAS FLUCTUANTES EN LA INACTIVACIÓN
DE CLAMIDOSPORAS DE *Phytophthora parasitica***

Rodríguez-Molina, M.C.¹, Picón-Toro, J.¹, Morales-Rodríguez, M.C.¹, Palo Osorio, C.¹, Palo Núñez, E.J.¹, Lacasa, A.²

¹ Centro de Investigación Agraria Finca La Orden-Valdesequera. Junta de Extremadura. Finca La Orden. 06187 Guadajira (Badajoz). E-mail: mcrodriguez@juntaextremadura.net

² Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). C/ Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia). E-mail: alfredo.lacasa@carm.es

La Tristeza es una enfermedad que afecta a los cultivos de pimiento al aire libre en Extremadura y en invernadero en Murcia. *Phytophthora parasitica* es el principal agente causal en la zona de cultivo de La Vera (Cáceres) y esta especie, junto a *P. capsici*, también está asociada a la enfermedad en Murcia. La biofumigación con especies de *Brassica*, se presenta como una estrategia de control alternativa a los desinfectantes químicos del suelo, y puede ser más eficaz si se combina con la solarización (biosolarización).

Se ha ensayado en condiciones de laboratorio el efecto en la inactivación clamidosporas de *P. parasitica* de cuatro especies de *Brassica* (*Brassica nigra*, *B. oleracea*, *B. carinata* y *Sinapis alba*) combinadas con temperaturas diarias fluctuantes correspondientes a condiciones de biosolarización en agosto en invernadero en Murcia: T1 (temperaturas elevadas): 4 h a 30 °C, 8 h a 33 °C, 8 h a 37 °C y 4 h a 40 °C y T2 (temperaturas intermedias): 4 h a 27 °C, 12 h a 30 °C y 8 h a 33 °C); y de biofumigación en marzo al aire libre en Extremadura: T3 (temperaturas bajas): 7,5 h a 14 °C, 12 h a 16 °C y 4,5 h a 19 °C). Los ensayos se realizaron con 4 repeticiones por biofumigante y régimen de temperatura y se incluyeron testigos no biofumigados pero sometidos a las condiciones de temperatura ensayadas. La inactivación se evaluó en suelo inoculado con 500 clamidosporas/g que finalizado el ensayo se analizó en medio selectivo PARP para estimar la densidad de inóculo no inactivado por el tratamiento.

En T1 todos los tratamientos biofumigantes inactivaron totalmente el inóculo, pero hubo supervivencia en el testigo. En T2 la inactivación fue total en todos los tratamientos, excepto en el de *B. carinata* y en el testigo. En T3 ningún tratamiento inactivó totalmente el inóculo, pero la biofumigación con *B. nigra* y con *B. oleracea* disminuyó significativamente ($P < 0,05$) la densidad de clamidosporas. La supervivencia en los testigos fue significativamente ($P < 0,05$) más baja en T1 que en T2 y T3.

PAN-216

EFFECTO *IN VITRO* DEL CALCIO Y EL POTASIO EN LA PRODUCCIÓN DE ESPORANGIOS DE *Phytophthora cinnamomi*

Serrano, M.S.¹, De Vita, P.¹, Fernández-Rebollo, P.², Trapero, A.¹, Sánchez, M.E.¹

¹Dpto Agronomía (Patología Agroforestal)²Dpto. Ingeniería Forestal, Universidad de Córdoba. E-mail: ag1sahem@uco.es

Se ha estudiado el efecto *in vitro* de varios productos de calcio y potasio sobre la producción de esporangios de *Phytophthora cinnamomi*, principal agente biológico causante de la podredumbre radical que afecta a las encinas y alcornoques de las dehesas del sur de la Península Ibérica. Para ello, se transfirieron discos de agar-guisante (2%) de 6 mm de diámetro con micelio del aislado PA25 o PE90 de *P. cinnamomi* a placas con extracto de suelo y el correspondiente compuesto de calcio o de potasio (CaO, CaCO₃, CaCl₂, Ca(NO₃)₂, CaSO₄, KIO₃, KNO₃, K₂SO₄, KCl y KOH) a la concentración de 600 ppm de Ca²⁺ y 50 ppm de K⁺. Se realizaron tres repeticiones por producto ensayado con sus correspondientes testigos (extracto de suelo únicamente). Las placas se incubaron en luz durante 48 h a 22 °C, cambiando el extracto de suelo con los respectivos compuestos cada 24 h. Transcurrido este tiempo se contabilizaron los esporangios producidos mediante observación y conteo al microscopio invertido. Los resultados obtenidos expresados como porcentaje de inhibición de la producción de esporangios con respecto al testigo, se compararon entre sí mediante el test HSD de Tukey para P<0,05.

No se apreciaron diferencias significativas entre aislados respecto a la inhibición de la producción de esporangios. El extracto de suelo con CaO y CaCO₃ inhibieron la producción de esporangios casi al 100%, mostrando diferencias significativas respecto del CaCl₂, KCl y K₂SO₄, con porcentajes de inhibición menores del 50%. El resto de los compuestos, KOH, KIO₃ y CaSO₄ presentaron porcentajes de inhibición de 82, 79 y 53% respectivamente. Sin embargo, los nitratos de calcio y potasio estimularon la producción de esporangios.

La cal y el carbonato cálcico han resultado ser los compuestos más efectivos en la inhibición de la producción de esporangios, por lo que serán ensayados en campo como método de control para disminuir la tasa de infección por *P. cinnamomi* en dehesas de encina.

PAN-217

**EFICACIA DE FUNGICIDAS EN APLICACION AL SUELO
PARA EL CONTROL DE *Phaeomoniella chlamydospora***

Tello, M. L., González, V.

Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Agroalimentario (IMIDRA-Comunidad de Madrid) Autovía A-2, Km. 38,2. 28800 Alcalá de Henares, Madrid. E-mail: marisa.tello@madrid.org

Phaeomoniella chlamydospora es uno de los agentes etiológicos de la enfermedad de Petri. En estudios previos se ha demostrado que el hongo es capaz de infectar barbados de vid a través de las raíces y colonizar la médula y el xilema, de manera que el suelo o sustrato se convierte en una potencial vía de dispersión del inóculo, que se sumaría a las ya aceptadas, como son las heridas de poda y el material vegetal de propagación. En este trabajo se analiza la eficacia de control frente al patógeno de dos materias activas en sendos preparados comerciales de aplicación al suelo: himexazol (dicarboximida) y tiram (dimetil-ditiocarbamato). Por una parte, se evaluaron *in vitro* los parámetros de inhibición de crecimiento micelial y germinación frente a 5 aislados del hongo para varias concentraciones de los productos. En una segunda fase, se ensayaron en invernadero, aplicando los productos a las concentraciones recomendadas por el fabricante (1.600 ppm para tiram y 360 ppm para el himexazol), en una sola aplicación, a plantas injertadas (cv. Tempranillo/140-Ru) de 6 meses de edad, cultivadas en macetas de 4 L en condiciones de invernadero. Como sustrato se utilizó una mezcla de suelo natural y perlita (5:1 v/v), que previamente se comprobó estaba libre de los patógenos responsables de las enfermedades de Petri y pie negro. Dos días después del tratamiento fungicida, el suelo se inoculó artificialmente con una suspensión de conidios de 5 aislados de *Pa. chlamydospora* a dos concentraciones (10^6 y 10^2 con/mL). Al cabo de 2 meses las plantas se extrajeron de las macetas, se seccionaron longitudinalmente y se midió en ellas la longitud de las necrosis vasculares ascendentes desde la base de la planta. Las variables analizadas estadísticamente fueron la incidencia (número de plantas sintomáticas) y la gravedad de la enfermedad (longitud de la necrosis vascular). Los resultados de los ensayos *in vitro* demuestran que tiram inhibe en mayor medida la germinación de conidios que el crecimiento micelial y que es más eficaz en el control del patógeno que himexazol. Asimismo, en los ensayos en invernadero, tras una sola aplicación, tiram fue más efectivo, reduciendo significativamente tanto la incidencia como la extensión de la necrosis vascular a los dos meses de la aplicación. La aplicación de tiram, con carácter preventivo, a suelos o sustratos de vivero, podría contener o retrasar la infección de *P. chlamydospora* de plantas de vid a través del sistema radicular y contribuir a su control.

* Este trabajo ha sido financiado por el INIA (proyecto RTA2007-00023-C04-04) y fondos FEDER.

PAN-218

EVALUACIÓN DE AGENTES DE BIOCONTROL E INDUCTORES DE RESISTENCIA PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN TOMATE

Rodríguez Pérez, A.^{1,2}, Acosta Pérez, A.J.¹, De León Guerra, L.¹, Domínguez Correa, P.¹, Gallo Lobet, L.¹

¹ Dpto. Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Apdo. 60, 38200 La Laguna. Tenerife. E-mail arguezp@icia.es

² Dpto. Microbiología y Biología Celular. Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna. 38207 La Laguna. Tenerife

Botrytis cinerea es un hongo polífago que afecta a numerosos cultivos, entre ellos el tomate. La facilidad con la que este hongo genera resistencias frente a los fungicidas antibotrítricos supone un serio inconveniente para llevar a cabo un control efectivo del patógeno. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar alternativas al control químico de esta enfermedad en tomate.

Se han realizado cuatro ensayos en los que se han evaluado diferentes tratamientos frente a *B. cinerea*, todos ellos formulados comerciales recomendados como antibotrítricos: i) el agente de biocontrol *Candida sake* (Candifruit; Simpcam Inagra S.A.); ii) Botrix (Capa Ecosystems, S.L.), comercializado como inductor de resistencia, en combinación con Siliforte (Capa Ecosystems, S.L.), un absorbente de humedad formulado a base de silicato potásico; iii) Trichobot (Trichodex S.A.), concentrado bacteriano de cepas del género *Bacillus*, metabolitos y enzimas producto de fermentación, y oligoelementos; iv) iprodiona (Rovral, BASF, S.A.), como referente de control químico habitual y v) fenhexamida (Teldor, Bayer S.A.) y boscalida (Signum, BASF S.A.), como nuevas materias activas registradas para el control de *B. cinerea*. Los ensayos se realizaron en condiciones controladas, con plantas de tomate de 8-10 hojas verdaderas. La inoculación se llevó a cabo 24 horas después de la aplicación de los tratamientos, sobre heridas en hoja recién hechas y heridas realizadas inmediatamente antes de tratar las plantas. El producto Candifruit fue incluido en tres ensayos; Botrix + Siliforte en dos ensayos; Trichobot en dos ensayos; fenhexamida y boscalida en un ensayo; e iprodiona en los cuatro ensayos. Los tratamientos que redujeron significativamente la incidencia de *B. cinerea* con respecto al control inoculado fueron Candifruit, Botrix + Siliforte y todos los fungicidas. El agente de biocontrol *Candida sake* (Candifruit) fue efectivo en plantas inoculadas sobre heridas practicadas al momento del tratamiento, con resultados consistentes en todos los ensayos. El tratamiento Botrix + Siliforte mostró una reducción de síntomas significativa en plantas inoculadas sobre heridas recién hechas en el primero de los ensayos, y sobre heridas practicadas 24 horas antes en el segundo.

PAN-219

**ANTAGONISMO *IN VITRO* DE LA CEPA T-22
DE *Trichoderma harzianum* Rifai
SOBRE ALGUNOS HONGOS PATÓGENOS DE FRUTALES**

Galeano, M. y Belda, J.E.

Dpto. I+D de Koppert España, S.L. Pol. Industrial Ciudad del Transporte del Poniente, parcela P 14, Nave 3. 04745 La Mojonera (Almería). E-mail: mgaleano@koppert.es

En la búsqueda de alternativas para el control biológico de los hongos patógenos en frutales mediante el uso de organismos antagonistas (OCB), y como primer paso de la investigación, se ha evaluado *in vitro* la capacidad antagonista de la cepa T-22 de *Trichoderma harzianum* Rifai (base del producto Trianum®) sobre los siguientes hongos patógenos:

- *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) causante de daño en raíz, cuello, y corona, así como hojas e infecciones de fruta;
- *Armillaria mellea* (Vahl) que produce la podredumbre blanca de las raíces;
- *Rosellinia necatrix* Prilleux, causante también de podredumbre blanca en raíces de frutales;
- *Fusarium oysporum* f. sp. *ubense*, el agente causal del Mal de Panamá en platanera.

Se han llevado a cabo pruebas de antagonismo directo, metabolitos volátiles y difusibles. Mediante la técnica de los cultivos duales, se ha evaluado el efecto antagonista de *T.harzianum* frente al patógeno en placas de Petri según la metodología de Bell *et al.* (1982) y Howell (2003), mediante los cuales se ha determinado: la competencia de nutrientes y espacio, el micoparasitismo, y el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR). También se ha valorado el nivel de antagonismo según la escala de Bell *et al.* (1982).

Los resultados han mostrado antagonismo *in vitro* de la cepa T-22 frente a los hongos patógenos estudiados. El hongo antagonista siempre ha superado en crecimiento a los patógenos en todas las confrontaciones mediante los cultivos duales y ha inhibido el crecimiento de los hongos patógenos en distintos niveles.

Referencias.

Bell, D.K., Well, H.D. y Markham, C.R. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species six plant pathogens. *Phytopathology*, 72: 279-382.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87: 4-10.

PAN-220**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN ACTINOMICETO CELULOLÍTICO EN EL CONTROL DE LA FUSARIOSIS VASCULAR DEL TOMATE EN SUSTRATOS HORTÍCOLAS CONDUCTIVOS Y SUPRESIVOS**

Castaño, R., Rojo, J., Borrero, C., Avilés, M.

Dpto. Ciencias Agroforestales, Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla. E-mail: aviles@us.es

La integración de supresividad natural de los sustratos junto a la introducción de agentes de control biológico (ACB) puede cooperar en el control de las fusariosis vasculares. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un agente de control biológico (un actinomiceto celulolítico, aislado A19) sobre sustratos con supresividad natural a la Fusariosis vascular de tomate en condiciones comerciales: compost de orujo de vid (OV) y compost de corcho (CC), y otro conductivo, la fibra de coco (FC).

Este ACB fue obtenido de situaciones de supresividad natural a la Fusariosis vascular de tomate y aislado de la rizosfera de planta de tomate sana crecida sobre compost de corcho inoculado con el fitopatógeno.

El ensayo se llevó a cabo en un invernadero situado en Sevilla en el 2008. El diseño fue de bloques al azar con tres repeticiones, cada repetición consistió en dos bolsas de cultivo de 30 L con 6 plantas de *Solanum lycopersicum* cv. 'Roma'. Los tratamientos fueron: 3 sustratos x 2 [inoculado o no con *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol)] x 2 (inoculado o no con A19), lo que hace un total de 12 tratamientos. Se realizaron las prácticas y manejos habituales para el adecuado mantenimiento del cultivo. La aplicación del ACB fue mediante baño de raíces de las plántulas en una suspensión de 10^3 células/ml solución y aplicación al sustrato a 10^5 células/ml de sustrato, ambas aplicaciones previas a la plantación. Posteriormente se realizaron tres reintroducciones del ACB a $5 \cdot 10^5$ conidias/ml de sustrato a los 7, 41 y 76 días post-plantación. La inoculación del patógeno se realizó a la dosis de $5 \cdot 10^3$ conidias/ml de sustrato, aplicado dos semanas después de la plantación. Se tomaron medidas de severidad cada semana y posteriormente se calculó el área bajo la curva de progreso de la enfermedad relativa. La duración del experimento fue de 3 meses. La comparación de las severidades registradas en los tratamientos inoculados con el fitopatógeno constató el carácter supresivo de los composts, destacando el compost de orujo de vid. La elevada reducción de la severidad presentada por el OV no se vio mejorada por la introducción del ACB. Sí se observó una reducción significativa de la severidad en la fibra de coco inoculada con el ACB, registrando una severidad equivalente a la del compost de corcho natural. También se redujo la severidad en el compost de corcho con la introducción del aislamiento de A19, aunque no distinta estadísticamente a la del compost natural, asemejándola a la del orujo de vid compostado. En definitiva, en CF y CC la introducción del ACB redujo entre el 32% y el 48% respectivamente la severidad respecto a los sustratos no inoculados con el agente.

PAN-221

CONTROL BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* Y *Sclerotium rolfsii* EN CÉSPED

Borrero, C.¹, Reis, M.², Guerrero, C.², Dionisio, L.², Torres, V., Bandarra, V., Castaño, R.³, Castillo, S.¹, Trillas, M.I.⁴, Avilés, M.³

¹ Biocontrol Technologies S. L. Parc Científic de Barcelona, C/ Baldiri Reixac, 15-21, 08028 Barcelona. E-mail: cborrero@biocontroltech.com

² Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, Centro de Desenvolvimento de Ciências e Técnicas de Produção Vegetal (CDCTPV/FERN/Ualg) 8005-139 Faro, Portugal

³ Dpto. Ciencias Agroforestales, Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla

⁴ Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Barcelona. Avda Diagonal 645, 08028, Barcelona

Con el objetivo de evaluar el uso de distintos métodos de control biológico contra enfermedades fúngicas de césped en campos de golf se realizó un ensayo en bandejas de alveolos en invernadero donde se sembró *Agrostis stolonifera* en arena mezclada con turba. Los patógenos a controlar fueron *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Los tratamientos a evaluar fueron: aplicación de un *Trichoderma* sp., aislado de rizosfera de césped; aplicación de Trianum-P (*Trichoderma harzianum*); incorporación de dos composts en mezcla con arena como base de siembra en lugar de turba, en mezcla con arena como recebo y con ambos tipos de incorporación. Como tratamientos de referencia se emplearon: un estándar químico (Iprodiona), un testigo con turba incorporada a la mezcla de siembra y un recebo con turba. También se establecieron controles de estos tratamientos sin patógenos. La infestación con *R. solani* se realizó introduciendo en cada alveolo una pastilla de agar donde previamente se había establecido un cultivo de este patógeno. Para *S. rolfsii* además de la pastilla se incorporaron tres esclerocios por alveolo. La severidad de la enfermedad se midió durante dos meses y las medidas se integraron para calcular el área bajo la curva de progreso de la enfermedad relativa. El césped fue cortado semanalmente.

Contra *R. solani* el tratamiento más efectivo fue el *Trichoderma* sp. aislado de césped, mientras que para *S. rolfsii* los tratamientos que redujeron la severidad fueron los que tenían incorporado compost como recebo tanto si tenían compost incorporado en la mezcla de siembra como si no. Esto refleja que para cada uno de los patosistemas estudiados hay una distinta medida de control biológico que iguala la eficacia del tratamiento químico estándar.

PAN-222

**CONTROL DE *Sclerotinia sclerotiorum* EN LECHUGA
POR *Trichoderma asperellum* (T34 BIOCONTROL®)**

Borrero, C.¹, Castillo, S.¹, Bejarano, I.², Casanova, E.¹, Segarra, G.¹, Trillas, M.I.³, Avilés, M.²

¹ Biocontrol Technologies S. L. Parc Científic de Barcelona, C/ Baldiri Reixac, 15-21, 08028 Barcelona. E-mail: cborrero@biocontroltech.com

² Dpto. Ciencias Agroforestales, Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla

³ Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Barcelona. Avda Diagonal 645, 08028, Barcelona

La podredumbre blanca de la lechuga está causada por *Sclerotinia sclerotiorum* hongo de suelo que afecta también a otros cultivos hortícolas invernales. Con el objetivo de comprobar la eficacia del agente de control biológico Biocontrol T34 (*Trichoderma asperellum*) frente a esta enfermedad se ha llevado a cabo un ensayo comparando su acción con la de dos estándares químicos (Rizolex y Switch).

El ensayo se realizó en invernadero y consistió en parcelas experimentales de 3 m², con 12 plantas de lechuga cv. 'Trocadero'. El ensayo se ha realizado en suelo con infestación natural de *S. sclerotiorum*. Se hicieron cuatro tratamientos: suelo tratado con T34 Biocontrol cerca de las plantas y con Rizolex, aplicación foliar con Switch a primeros síntomas y plantas testigo tratadas con agua. El diseño experimental del ensayo fue de bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. En este ensayo se evaluó la densidad inicial de esclerocios de *S. sclerotiorum* en cada bloque y la densidad resultante tras el ensayo en cada una de las parcelas experimentales. La severidad de la enfermedad se midió durante dos meses y las medidas se integraron para calcular el área bajo la curva de progreso de la enfermedad relativa. Cuando las lechugas alcanzaron el tamaño comercial se procedió a su recogida. Los restos de cosecha se dejaron en el terreno y pasadas unas dos semanas se incorporaron los residuos al suelo de cada una de las parcelas experimentales, simulando una situación comercial.

El mejor tratamiento para controlar la podredumbre blanca de la lechuga fue Switch seguido de T34 Biocontrol. Ambos tratamientos no difieren estadísticamente. El tratamiento de Rizolex no mostró diferencias significativas respecto al testigo, excepto en los días 21 y 27 desde el comienzo de la epidemia. Sólo produjeron cierta reducción de la densidad de esclerocios en el suelo respecto a la densidad inicial Rizolex y Switch mientras que T34 Biocontrol ha repercutido en un menor incremento de la densidad de esclerocios en el suelo tras el cultivo de lechuga en comparación con el testigo no tratado.

PAN-223

RESPUESTA DE LA COMUNIDAD MICROBIANA DE UN SUELO A LA ENMIENDA CON SUSTRATOS HORTÍCOLAS USADOS Y TRATADOS O NO CON *Trichoderma asperellum* (T34) DURANTE SU UTILIZACIÓN

Avilés, M.¹, Castillo, M.L.¹, Castillo, S.², Borrero, C.², Casanova, E.², Segarra, G.², Trillas, M.I.³, Ordovás, J.¹

¹ Dpto. Ciencias Agroforestales, Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla. E-mail: aviles@us.es

² Biocontrol Technologies S. L. Parc Científic de Barcelona, C/ Baldiri Reixac, 15-21, 08028 Barcelona

³ Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Barcelona. Avda Diagonal 645, 08028, Barcelona

En este trabajo se ha evaluado el efecto que sobre la comunidad microbiana de un suelo presenta la enmienda con sustratos hortícolas usados según hayan sido éstos tratados o no durante los cultivos con el formulado de *Trichoderma asperellum* (T34 Biocontrol[®]). Se empleó un sustrato de turba y una fibra de coco, cultivados previamente con clavel y reutilizados para varias hortícolas. Las densidades poblacionales de *Trichoderma* spp. detectadas en los sustratos antes de las enmiendas fueron: 1.7×10^3 cfu/ml en la turba no tratada con T34 y $3,5 \times 10^4$ cfu/ml en la turba tratada con T34; 12 cfu/ml en la fibra de coco no tratada y 5.3×10^4 cfu/ml en la fibra de coco tratada con T34. Se enmendó un suelo arcillo-arenoso de uso hortícola con un 5% (v/v) de los distintos sustratos, incubándose tras la mezcla durante una semana. Se determinaron las poblaciones microbianas de distintos grupos eco-nutritivos mediante siembra de suspensiones seriadas en medios semi-selectivos; la biomasa microbiana mediante la técnica de conteo directo por tinción de naranja de acridina y los perfiles del metabolismo del carbono de la comunidad microbiana mediante la técnica Biolog[®]. La enmienda del suelo con los dos sustratos distintos sólo tiene un efecto diferencial sobre las poblaciones de dos de los diez grupos eco-nutritivos analizados. Por otro lado, el que estos sustratos hayan sido tratados o no con T34 afecta además al grupo de *Trichoderma* spp. como era de esperar. El que el sustrato empleado para la enmienda sea turba o fibra de coco no tiene un efecto diferencial en la biomasa del suelo. En cambio, sí se aprecia una menor biomasa microbiana en el suelo enmendado si los residuos han recibido tratamientos previos con T34. Esto puede ser debido a que los residuos colonizados con T34 están nutritivamente más agotados. El que el sustrato para la enmienda sea turba o fibra de coco afecta tanto a la riqueza funcional (número de fuentes carbonadas utilizadas) como a la diversidad de la comunidad microbiana del suelo. En cambio, el haber recibido tratamientos previos con T34 ni afecta a la diversidad ni a la riqueza funcional. En definitiva el efecto del tipo de sustrato es más intenso que el hecho de que los sustratos hayan sido tratados o no con T34.

PAN-224

IDENTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES DE LA MATERIA ORGÁNICA POR SP-MAS 13C NMR RELACIONADA CON DIFERENTES NIVELES DE SUPRESIVIDAD A LA FUSARIOSIS VASCULAR EN TRES MEDIOS DE CRECIMIENTO VEGETAL

Castaño, R., Borrero, C., Avilés, M.

Dpto. Ciencias Agroforestales, Escuela de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla. E-mail: aviles@us.es

El tomate y clavel son dos de los cultivos hortícolas más importantes en el sur de España. Una enfermedad clave en ambos cultivos es la Fusariosis vascular, causada por las formas especiales *lycopersici* y *dianthi*, respectivamente, de la especie-forma *Fusarium oxysporum*. El empleo de composts bien como componentes de sustratos hortícolas o como enmienda de suelos puede inducir supresividad natural frente a esta enfermedad. La Materia Orgánica (MO) de estos composts juega un papel determinante en la regulación y en el mantenimiento de las poblaciones microbianas responsables, en la mayoría de los casos, del efecto supresivo.

En este trabajo relacionamos la proporciones de determinados grupos funcionales del carbono [mediante la técnica Single pulse (SP)- Magic Angle Spinning (MAS) ¹³C Nuclear Magnetic Resonance (NMR)] de dos composts y la fibra de coco que presentan distintas conductividades a las Fusariosis vasculares. Compost de orujo de vid más supresivo que el compost de corcho y la fibra de coco conductiva.

Los resultados NMR revelaron que ni la región de estructuras polisacáricas (60-110 ppm), ni la concentración de carbohidratos (pico que resuena a 75 ppm) son buenos indicadores de la supresividad a la Fusariosis vascular posiblemente debido a que componentes tipo-lignina resuenan en estas regiones, enmascarando las proporciones reales de polisacaridos no recalcitrantes. En cambio, el nivel de Hemicelulosa (pico que resuena a 175 ppm) se encontró superior en los composts, siendo mayor en el compost de orujo de vid. Así, la intensidad del pico de hemicelulosa se presenta como un buen indicador de la supresividad en estos materiales.

PAN-225

**CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES AFECTADOS EN MOTILIDAD,
PRODUCCIÓN DE SIDERÓFOROS Y ANTAGONISMO *IN VITRO*
DEL AGENTE DE BIOCONTROL DE LA VERTICILIOSIS DEL OLIVO
Pseudomonas fluorescens PICF7**

Maldonado-González, M.M., Schiliro' E., Mercado-Blanco, J.

Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC, Apdo. 4084, 14080 Córdoba; E-Mail: jesus.mercado@ias.csic.es

La Verticilosis del olivo (VO), enfermedad causada por *Verticillium dahliae* Kleb., es una patología de difícil control. Por ello, la implementación de una estrategia de manejo integrado de la enfermedad es clave para hacer frente a su amenaza. Una de las medidas de control con potencial e interés es el tratamiento de la planta, ya sea durante su producción viverística o en condiciones de cultivo, con microorganismos antagonistas (agentes de control biológico) del patógeno. Estudios anteriores han demostrado que la cepa *Pseudomonas fluorescens* PICF7, aislada de raíces de olivo, es capaz de colonizar endofíticamente tejidos de raíz y de controlar eficazmente el desarrollo de la VO en plántones de las variedades Arbequina y Picual. Los mecanismos implicados en el control de la VO por PICF7 son aún desconocidos. No obstante, se ha comprobado que, además de su carácter endofítico, es capaz de producir sideróforos, ácido salicílico y mostrar antagonismo *in vitro* frente a *V. dahliae*. El objetivo de este trabajo es elucidar cuáles son los mecanismos que PICF7 despliega en el biocontrol de la VO. Para ello se ha procedido a la generación de un banco de mutantes de PICF7 mediante inserciones al azar del transposón Tn5. En la actualidad se dispone de una mutateca con unas 9.000 inserciones. Se ha comenzado con la identificación y caracterización de fenotipos mutantes afectados en: 1) motilidad, por su potencial implicación en la capacidad colonizadora de raíces de olivo; 2) producción de sideróforos en diferentes medios (p.e. CAS, KB y SSM), por su importancia en la competencia por hierro en la rizosfera; y 3) producción de metabolitos inhibidores del crecimiento de *V. dahliae*, para determinar si la antibiosis es uno de los mecanismos implicados. Tras el escrutinio de unas 2.000 inserciones se han identificado: 1) 14 mutantes con motilidad reducida (tipo «swimming»); 2) mutantes defectivos en producción de sideróforo(s) a 25 °C (25) o a 37 °C (14); y 3) 29 mutantes que tienen afectada la capacidad de inhibir el crecimiento de *V. dahliae* *in vitro*. Además, algunos mutantes mostraron más de un fenotipo afectado, lo que sugiere que la inserción tuvo lugar en algún gen regulador global. Actualmente se procede a la caracterización molecular de 56 mutantes al objeto de: 1) identificar los genes afectados, y 2) determinar su implicación en el biocontrol de la VO por parte de la cepa PICF7.

* Financiado por la Junta de Andalucía (P07 - CVI - 02624).

PAN-226

***Penicillium digitatum*, AGENTE CAUSAL DEL MOHO VERDE Y SU CONTROL QUÍMICO EN FRUTOS DE LIMA MEXICANA Y LIMA PERSA**

Orozco-Santos, M.¹, Carrillo-Medrano, S.H.¹, Manzo-Sánchez, G.², Vázquez-Jiménez, J.L.¹, García-Mariscal, K.¹, Velázquez-Monreal, J.L.¹ y Robles-González, M.¹

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Tecomán. Km. 35 carretera Colima-Manzanillo. Tecomán, Colima, México 28100. E-mail: orozco.mario@inifap.gob.mx

² Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Apartado postal 36. Tecomán, Colima, México 28100. E-mail: gilberto_manzo@yahoo.com

El moho verde es la enfermedad más importante que afecta los frutos en postcosecha de lima Mexicana (*Citrus aurantifolia*) y lima Persa (*Citrus latifolia*) en México. El hongo *Penicillium digitatum* Sacc fue aislado e identificado como el agente causal de la enfermedad. Los postulados de Koch fueron satisfactoriamente cumplidos para relacionar *P. digitatum* con el moho verde en los frutos de ambas especies cítricas. En medio de cultivo papa dextrosa agar, *P. digitatum* produjo una colonia con micelio verde grisáceo a olivo, márgenes de color blanco y una abundante esporulación. Los conidios fueron de forma elíptica a cilíndrica, de color blanco verdoso a verde pálido y midieron 5-9 x 3-6 μm . Se evaluaron cuatro concentraciones de inóculo de *P. digitatum* (1.0×10^5 , 4.0×10^5 , 7.0×10^5 y 1.0×10^6 esporas/ml) para determinar la óptima que cause síntomas en los frutos de lima mexicana y lima persa. Los frutos fueron inoculados (25 frutos por tratamiento con cuatro repeticiones) con una varilla de acero, la cual se sumergió en la suspensión de esporas y provocando una herida de 2 mm de profundidad a cada fruto. Los tratamientos se incubaron a $20\text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ durante 10 días. A los 10 días después de la inoculación, todas las concentraciones evaluadas registraron un 100% de frutos afectados en ambas especies. La severidad del moho verde en lima mexicana fue de 98 a 100% de área de fruta enferma y no hubo diferencia significativa entre concentraciones. En lima Persa, la severidad más alta fue lograda con 1.0×10^6 y 7.0×10^5 esporas/ml, registrando 93.7 a 100% de daño, respectivamente. Además, se evaluó la eficacia de los fungicidas Pyrimethanil (500, 1,000 and 2,000 ppm + cera) e Imazalil (500 ppm) sobre el control de la enfermedad. Se utilizó la metodología de inoculación descrita previamente, usando 1.0×10^6 esporas/ml. El Pyrimethanil redujo la incidencia y severidad de la enfermedad; sin embargo, el mejor tratamiento fue Pyrimethanil a 1,000 ppm and Pyrimethanil + cera a 2,000 ppm, registrando 5,5 y 3,3% de frutos afectados, respectivamente. El Pyrimethanil e Imazalil, ambos a 500 ppm tuvieron 8,5 y 11,0% de frutos infectados. El tratamiento testigo (solamente inoculado y sin tratamiento fungicida) registró un 100% de frutos enfermos.

PAN-227

**SUPERVIVENCIA DE *Phytophthora* A LA BIOSOLARIZACIÓN
EN DISTINTAS FECHAS EN INVERNADEROS DE PIMIENTO
DE LA REGIÓN DE MURCIA**

Núñez-Zofío, M.¹, Guerrero, M.M.², Larregla, S.¹, Lacasa, C.M.², Martínez, V.³, Ros, C.², Martínez, M.A.⁴, Lacasa, A.²

¹ Neiker-Tecnalia, c/ Berreaga, 1, Derio (Vizcaya) slarregla@neiker.net

² IMIDA, Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia) alfredo.lacasa@carm.es

³ Programa Colaboración FECOAM- CAA, c/ Caballero, 13, 30003 Murcia

⁴ ETSIA, UPCT, Paseo Alfonso XIII, s/n, 30202 Cartagena (Murcia)

La biosolarización es utilizada para la desinfección del suelo de los invernaderos de pimiento de la Región de Murcia, como forma de control de los patógenos edáficos, siendo *Phytophthora capsici* y *P. parasitica* los principales problemas fúngicos. Se ha evaluado la supervivencia de oosporas de *Phytophthora capsici* enterradas a 15 y 30 cm de profundidad en dos invernaderos en los que se habían planteado sendos ensayos de biosolarización en agosto y octubre con pellets de *Brassica carinata* a 0,3 kg/m², solos o mezclados con estiércol fresco de ovino a 2,5 kg/m², en uno de ellos y con vinaza de remolacha a 1,5 L/m² sola o combinada con estiércol fresco de ovino a 2,5 kg/m² en el otro. El suelo biosolarizado permaneció cubierto por el plástico durante 6 semanas y se puso como contraste de la biosolarización, la desinfección con bromuro de metilo y el suelo no desinfectado. Los tratamientos se repitieron en los mismos suelos durante dos campañas consecutivas, mediando entre ellas un cultivo de pimiento. Se encontraron diferencias entre épocas de aplicación para los dos tratamientos de biosolarización de cada invernadero, tanto en la viabilidad de las oosporas como en la infectividad del inóculo, proporcionando similares niveles de eficacia que el bromuro de metilo cuando se inicia en agosto. También se encontraron diferencias entre profundidades dentro de los tratamientos y entre tratamientos dentro de cada fecha, siendo menor la supervivencia en las combinaciones o mezclas con el estiércol que en los pellets solos o en la vinaza sola. La eficacia desinfectante parece estar relacionada con las temperaturas alcanzadas a las distintas profundidades.

PAN-228**RESISTENCIA DE *Monilinia* spp. A FUNGICIDAS EN HUERTOS DE MELOCOTONERO DEL VALLE DEL EBRO**

Egüen, B., Melgarejo, P., De Cal, A.

Departamento de Protección Vegetal, INIA, Carretera de La Coruña km 7, 28040 Madrid

La podredumbre parda causada por *Monilinia* spp. es una de las enfermedades más importantes de los frutales de hueso. Hasta hace unos años *M. laxa* y *M. fructigena* eran las especies causantes de la enfermedad, pero desde el año 2006, *M. fructicola* está ya presente en el Valle del Ebro. *M. fructicola* presenta un alto potencial de desarrollo de resistencia a bencimidazoles, dicarboximidas y triazoles en aquellos países donde esta especie está establecida desde hace muchos años. Sin embargo, ningún aislado resistente de *M. laxa* se había observado en España hasta 2006. La resistencia es un problema importante especialmente en enfermedades policíclicas como la podredumbre del melocotonero.

Por ello, el objetivo de este trabajo es estudiar la resistencia a bencimidazoles, dicarboximidas y triazoles de los aislados de *Monilinia* spp. encontrados en 2006, año en el que se detecta por primera vez la especie *M. fructicola*. Se caracterizan 465 aislados de *Monilinia* spp.: 376 *M. laxa*, 79 *M. fructicola*, y 9 *M. fructigena*, encontrados a largo del cultivo en 31 huertos del Valle del Ebro. Las dosis discriminatorias entre aislados resistentes y sensibles para bencimidazoles (metiltiofanato), dicarboximidas (iprodiona) y triazoles (ciproconazol) fueron: 2 mg/l, 5 mg/l y 0,3 mg/l en agar patata dextrosa respectivamente. Un bloque micelial (5 mm diámetro) de cada aislado procedente del extremo de colonias en crecimiento activo se sitúa sobre cada uno de los medios y se registra la presencia o ausencia de crecimiento tras 7 días de incubación en la oscuridad a 22 °C. Se incubaron tres placas de cada aislado y fungicida. La mayoría de los aislados de *M. laxa* y *M. fructigena* son sensibles a los fungicidas. Sin embargo, todos los aislados de *M. fructicola* son resistentes a metiltiofanato, y susceptibles a iprodiona, discutiéndose los resultados frente a ciproconazol. El uso de metiltiofanato debe ser limitado al máximo dados los niveles de resistencia alcanzados por *M. fructicola*.

PAN-229

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRACTOS
DE LA GAMA PROACTIF® FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS**

Muñoz, R. M.¹, Lerma, M. L.¹, Castillo, P.¹, Sánchez, V.²

¹ Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete. Apdo. Correos 451. 02006 Albacete. E-mail: rmg.itap@dipualba.es

² Albacete Agrícola. Polígono Industrial Campollano c/ E,17, 02007 Albacete

La reciente revisión de la directiva 91/414/CEE, así como el Reglamento CE 396/05, han motivado la retirada de muchos productos fitosanitarios. Por ello, en la actualidad es importante investigar nuevas materias activas, que puedan ser eficaces en el control de plagas o enfermedades.

En este trabajo se ha estudiado el efecto antifúngico *in vitro* de extractos de la gama de PROACTIF® (Martínez Integral, Totana, Murcia), frente a varios hongos fitopatógenos. Los productos ensayados han sido Proactif MT Ecofung-1, Proactif SC Ecofung-2, Proactif Ecofung aloe y Proactif KN Econela, utilizados en dosis de 0,1, 1 y 10 ml/l, frente a los hongos fitopatógenos *Alternaria porri*, *Stemphylium vesicarium* (aislado tanto de ajo como de cebolla), *Botrytis cinerea* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Se ha determinado el porcentaje de inhibición de crecimiento fúngico, con respecto al testigo, a los 7, 14 y 21 días de incubación. Para los tratamientos que han mostrado total inhibición se ha señalado el efecto fungicida o fungistático. Los datos obtenidos han sido objeto de transformación y análisis de varianza, obteniéndose mediante análisis de regresión la dosis media que produce el 50% de inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* (DE50).

Los productos más efectivos en la inhibición del crecimiento fúngico han sido Proactif MT Ecofung-1, Proactif SC Ecofung-2 y Proactif Ecofung aloe, sin diferencias significativas entre ellos. Los hongos utilizados en los ensayos han mostrado un comportamiento estadísticamente idéntico en cuanto a los tratamientos efectuados. El producto Proactif KN Econela, aún presentando menores valores medios de inhibición del crecimiento fúngico, es el único que ha mostrado total inhibición a la dosis de 10 ml/l para los cinco hongos. Se ha confirmado el carácter fungicida de todos los tratamientos que han mostrado 100% de inhibición del crecimiento fúngico.

Los valores medios obtenidos del parámetro DE50 para los productos más eficaces han sido 0,05, 0,28 y 0,74 ml/l, a los 7, 14 y 21 días de incubación, respectivamente.

PAN-230

**EMPLEO DEL MODELO DE MILLS Y LAPLANTE
PARA MEJORAR LA EFICACIA DE LA PRÁCTICA FITOSANITARIA
EN MOTEADO DE MANZANO EN LA RIOJA**

Gallo, S., Baroja, E., Rubio, S.

Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agroalimentario de La Rioja (CIDA). Ctra. Mendavia-Logroño NA-134, P.K. 87,8 26071 Logroño. E-mail: silvia.gallo@larioja.org

Una de las enfermedades más importantes que ataca actualmente al manzano en La Rioja es el moteado, provocada por el hongo *Venturia inaequalis* (Cke.). Una estrategia de control de esta enfermedad es el empleo de un modelo de predicción que oriente y facilite una aplicación de tratamientos adecuada a los momentos de verdadera necesidad del cultivo (momentos de riesgo previstos por el modelo), optimizando y mejorando la eficacia de éstos, a la vez que se dirige a una producción más respetuosa con el medio ambiente y más sostenible.

Se ha comprobado en una zona de La Rioja, en los años 2008 y 2009, un modelo basado en las publicaciones de Mills y Laplante (1951) con ajustes del IRTA de Girona. Se diferenciaron tres tipos de parcelas de control, una testigo, sin tratamientos fitosanitarios para esta enfermedad, una parcela guiada por los tratamientos fungicidas que recomienda el modelo, y una parcela con una estrategia estándar de tratamientos basada en una cadencia fija, que es la práctica habitual que se sigue normalmente para controlar esta enfermedad. Los datos meteorológicos empleados, obtenidos en colaboración con el Servicio de Información Agroclimática de La Rioja (SIAR), fueron los medidos en condiciones de cultivo y los registrados por la estación de la red agroclimática de La Rioja más próxima a la zona ensayada.

La adecuación del modelo a las condiciones locales de La Rioja fue correcta en ambas campañas, los momentos de riesgo del modelo correspondieron a la incidencia de enfermedad, y el menor resultado de frutos dañados ocurrió en la parcela que se guió por los tratamientos recomendados, los cuales fueron suficientes para mantener el cultivo sin daño apreciable. Empleando la información proporcionada por el modelo, se realizaron tres tratamientos fungicidas en la «parcela guiada» en la campaña 2008 y un tratamiento en el 2009, resultando un ahorro de tratamientos respecto a los aplicados con la práctica habitual, que se compuso de hasta nueve tratamientos en 2008 y cinco en 2009. Los riesgos establecidos por el modelo con los dos orígenes de datos, tanto los medidos en condiciones del cultivo, en el interior de la parcela, como en la estación más próxima de la red general de estaciones, no mostraron diferencias trascendentes para la recomendación de los tratamientos fungicidas. No obstante, se continúa este estudio en diferentes zonas de producción de manzano para validar el modelo para su uso e intervención en la práctica de aplicación fitosanitaria.

PAN-231

CARACTERIZACIÓN DE MUTANTES DIRIGIDOS EN EL OPERÓN *DAR* DE LA CEPA DE BIOCONTROL *Pseudomonas fluorescens* PCL1606

Calderon, C.E.¹, Bonilla, N.¹, Pliego, C.², de Vicente, A.¹, Cazorla, F.M.¹

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior e Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), ¹Departamento de Microbiología

² Área de Genética, Universidad de Málaga, 29071 Málaga. E-mail: claudia@uma.es

Pseudomonas fluorescens PCL1606 es una rizobacteria con capacidad de biocontrol frente a hongos fitopatógenos de suelo. Su actividad antagonista está relacionada directamente con la producción del antibiótico 2-hexil-5-propil resorcinol (HPR). Se han detectado los genes biosintéticos y reguladores para el antibiótico HPR en *P.aurantiaca* BL915, organizándose en un operón constituido por cinco genes (operón *dar*), con tres genes biosintéticos y dos genes reguladores. Se ha puesto de manifiesto, mediante amplificación por PCR, la presencia de dicho operón en la cepa *P.fluorescens* PCL1606, con el mismo número de genes y en el mismo orden, aunque con ligeras diferencias. Con objeto de determinar el papel de los distintos genes del putativo operón *dar* de *P.fluorescens* PCL1606, se ha construido una colección de mutantes dirigidos por inserción en el operón *dar*. Para la obtención de los mutantes se clonaron insertos de cada uno de los genes del operón *dar* en el vector pCR2.1, y por electroporación se han introducido en *P. fluorescens* PCL1606 mediante una doble recombinación homóloga, quedando de ésta manera el gen interrumpido. Una vez obtenidos los mutantes, se realizó una caracterización fenotípica de las propiedades relacionadas con el biocontrol, entre ellas la capacidad de antagonismo frente a *Rosellinia necatrix* y *Fusarium oxysporum*, la producción de antibióticos, los diferentes tipos de movilidad, la producción de biopelícula y ensayos de control biológico en aguacate-*Rosellinia*.

* Esta investigación ha sido apoyada por el Proyecto AGL2008-05453-C02-01 (MICINN, España), cofinanciado con fondos FEDER (EU). Claudia, E. Calderón recibió el apoyo de una beca de FPI, MICINN, España.

PAN-232

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE SELECCIONES DE FRESA A SUS PRINCIPALES HONGOS PATÓGENOS EN VIVERO

Redondo, C.¹, Martínez-Treceño, A.², Melgarejo, P.¹, De Cal, A.¹

¹ Departamento de Protección Vegetal. INIA. Ctra. de La Coruña, Km. 7.500, 28040 Madrid

² Oficina española de variedades vegetales. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Alfonso XII n.º 62-2ª planta, 28014 Madrid

El conocimiento del comportamiento de los nuevos cultivares de fresa frente a los patógenos más importantes que afectan a este cultivo es una de las características agronómicas a considerar en la posible comercialización por parte de los viveros de producción de planta de fresa.

El objetivo de este trabajo es evaluar en condiciones controladas, la resistencia de 39 selecciones de segundo y tercer año frente a diferentes enfermedades de planta de fresa como verticilosis, podredumbre de cuello y oidio.

Los experimentos fueron realizados desde 2003 a 2010 en cámara de cultivo (22 °C, 80% RH y 16 horas de fotoperiodo). Las plantas crecieron en contenedores de 1 litro, con sustrato estéril (turba y vermiculita) o en frascos Erlenmeyer, conteniendo 150 ml de solución nutritiva con macro y micronutrientes, durante 30-60 días.

Para evaluar la resistencia de las plantas a la verticilosis y la podredumbre de cuello se realizaron dos ensayos por selección, inoculando artificialmente las plantas con suspensiones de conidias de *Verticillium dahliae* (10^{7-8} con/ml) inoculadas por inmersión de la raíz durante 30 minutos. Las inoculaciones con zoosporas de *Phytophthora cactorum* (10^{4-5} zoos/ml) se realizaron por baño de raíz en la suspensión de zoosporas y por inyección al cuello una semana después de la primera inoculación. En el caso de *Podosphaera aphanis* se evaluó el inóculo natural de las plantas de vivero.

La susceptibilidad o resistencia de las nuevas selecciones fue evaluada según una escala basada en los síntomas más notables de cada enfermedad estudiada y tomando como control la variedad comercial Camarosa, cultivar utilizado por los productores de fresa en España y de conocido comportamiento frente a estos patógenos.

Los experimentos muestran que las selecciones 2-552, 0-205, 2-232, 1601-1, 1-1165 y 1508-1 y los cultivares comerciales Medina, Pandora y Carisma se pueden considerar más resistentes frente a *P. cactorum* que la variedad comercial Camarosa. Sin embargo, únicamente la selección 1-1165 presentó mayor resistencia a *V. dahliae* y *P. aphanis* que Camarosa.

PAN-233

**ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DEL MELOCOTÓN
A LA PODREDUMBRE PARDA CAUSADA POR *Monilinia laxa***

Villarino, M.¹, Sandín-España, P.², Melgarejo, P.¹, De Cal, A.¹

¹ Departamento de Protección Vegetal. INIA. Carretera de La Coruña km 7. 28040 Madrid

² Unidad de Productos Fitosanitarios. INIA. Carretera de La Coruña km 7. 28040 Madrid

El grado de susceptibilidad y resistencia del melocotón a la infección de *Monilinia* spp. varía con el grado de madurez del fruto o el tipo de cultivar. No hay cultivares que sean inmunes a la infección, sólo existen algunos cultivares parcialmente tolerantes, siendo la mayoría de cultivares comerciales susceptibles o muy susceptibles a la podredumbre parda. Se producen reacciones de defensa en ciertos cultivares a lo largo del cultivo, especialmente en frutos inmaduros, en los que se acumulan ligninas, suberinas en las células directamente en contacto con el patógeno, ceras en la cutícula y otros compuestos entre los que destacan sustancias fenólicas como: catequina, procianidina B3, ácido cafeico, clorogénico y neoclorogénico. Estos cinco compuestos fenólicos disminuyen durante la maduración y se mantienen en el nivel más bajo durante dos semanas antes de la cosecha. Sin embargo, el efecto de los compuestos fenólicos parece estar más relacionado con procesos antioxidantes o secundarios que con una toxicidad directa frente al patógeno.

Se estudió la susceptibilidad de 3 cultivares de melocotón ('Autum Free', 'Roig d'Albesa' y 'Plácido') a la podredumbre parda a lo largo del ciclo de cultivo (mayo a septiembre) durante dos años. En cada fecha de muestreo, 9 frutos se pulverizaron con agua destilada estéril (ADE) como control y otros 9 frutos con una suspensión de conidias de *M. laxa* (10^6 conidias/ml) que se incubaron durante 7 días para evaluar la incidencia de la enfermedad. En 9 frutos no pulverizados, se analizaron los compuestos fenólicos por HPLC-DAD. La identificación de estos compuestos se basó en las medidas de la masa exacta de los iones [M-H]⁻ y sus iones producto. Los derivados del ácido hidroxicinámico (ácido clorogénico y neoclorogénico) fueron cuantificados mediante calibración con el patrón analítico del ácido clorogénico a 340 nm. Se utilizó ácido clorogénico estándar para estudiar su toxicidad sobre la germinación de conidias de *M. laxa* y su efecto sobre la melanización y el crecimiento de *M. laxa* en medio de cultivo. Los cultivares mostraron mayor susceptibilidad al patógeno 4 a 8 semanas antes de la cosecha, donde se observó una reducción significativa de los ácidos clorogénico y neoclorogénico, que fueron los más abundantes en los tres cultivares ensayados. No se observó ningún efecto de estos ácidos sobre el crecimiento de *M. laxa*, pero sí la reducción de melaninas en el micelio de las colonias de *M. laxa* cuando crecían en agar patata dextrosa.

PAN-234

COMUNIDADES FÚNGICAS ASOCIADAS AL CHANCRÓ RESINOSO DE *Pinus radiata* CAUSADO POR *Fusarium circinatum* EN EL NORTE DE ESPAÑA: ASOCIACIÓN CON INSECTOS E INTERACCIONES PATÓGENO-SAPRÓFITOS

Romón, P.¹; Troya, M.²; Fernández de Gamarra, M.E.²; Eguzkitza, A.²; Iturrondobeitia, J.C.²; Goldarazena, A.¹

¹ NEIKER-Tecnalia, Basque Institute of Agricultural Research and Development, Arkaute Centre, Department of Plant Production and Protection, 46-01080 Vitoria, Spain, promon@neiker.net; agoldarazena@neiker.net

² UPV-EHU, University of the Basque Country, Science and Technology Faculty, Department of Zoology and Animal Cell Dynamics, Sarriena s/n E48940, Leioa, Spain

Los síntomas incluyen marchitamientos de plántulas en pre- y postemergencia, chancros exudativos, muerte apical regresiva, muerte de piñas y mortalidad de árboles. El mayor daño es para los viveros puesto que el inóculo de las semillas (Storer et al. 1998a) y el suelo (Dwinell & Barrows 1978) pueden infectar y destruir el hipocotilo. Estudios previos han mostrado inhibiciones significativas del crecimiento micelial de *F. circinatum* en placas de PDA conteniendo thiabendazol. El thiabendazol es un fungicida autorizado pero solamente para post-cosecha de frutas y patatas (European Commission Report 7603/VI/97). Reduce en aproximadamente un 86% las plántulas infectadas por chancro germinadas a partir de semillas infectadas tratadas con 2537-4228 µg/ml. Sin embargo, se observan efectos fitotóxicos por encima de 4228 µg/ml y se determinan concentraciones superiores a 14.2 g/L para un control efectivo superior a nueve semanas (Runion & Bruck 1988), incrementando por tanto el riesgo de fijar resistencias en el patógeno.

Por tanto, la ausencia de un método de control efectivo, autorizado y medioambientalmente sostenible, ha incrementado la necesidad de tener un mayor conocimiento sobre potenciales agentes de control biológico asociados con *P. radiata*. En este sentido, aunque las galerías de algunos insectos parecen ser los principales focos de inicio de la infección, se conoce muy poco sobre qué hongos interactúan dentro de cada complejo insecto-chancro. Nuestro primer objetivo fue determinar, mediante secuenciación del ITS1-5.8S-ITS2 rDNA y del gen histonal H3, la diversidad de especies fúngicas asociadas con insectos asociados y no asociados con *F. circinatum*. El segundo objetivo fue cuantificar la competencia diferencial y las capacidades de captura primaria y secundaria de *F. circinatum*, *Fusarium lateritium* y *Penicillium chrysogenum*. El desarrollo de una tercera serie de ensayos *in vivo* determinó las capacidades antagonísticas de dichos hongos para proteger la germinación de plántulas de *P. radiata* en suelo infectado por *F. circinatum* e inducirles resistencia adquirida frente a la enfermedad.

PAN-235

**EFFECTO *IN VITRO* DE LA COMBINACIÓN ANTAGONISTA/FUNGICIDA
SOBRE AISLADOS DE *Rosellinia necatrix***

Osorio-Hernández, E.¹, Ruano-Rosa, D.², Hernández-Castillo, F. D.¹, López-Herrera, C. J.²

¹ Universidad Autónoma Antonio Narro, Dpto. Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

² Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. C/ Alameda del Obispo s/n 14004. Córdoba, España. E-mail: lherrera@cica.es

Se ha estudiado el efecto combinado del hongo antagonista *Trichoderma*, y el fungicida de contacto Fluazinam sobre *Rosellinia necatrix*, agente causal de la podredumbre blanca (PB) del aguacate con el fin de potenciar el efecto de inhibición del crecimiento del patógeno *in vitro* utilizando la dosis mínima efectiva del fungicida.

En un primer experimento se determinó la dosis mínima efectiva del fungicida, mediante el estudio de 5 concentraciones (0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 ppm) sobre 9 aislados del patógeno (Rn 10, Rn 12, Rn 17, Rn 30, Rn 33, Rn 50, Rn 53 y Rn 320) representantes de diferentes grupos de virulencia, midiendo diariamente el crecimiento de las colonias fungicas en placas de Petri con las diferentes concentraciones del fungicida y calculando el área bajo la curva del crecimiento micelial. Este experimento se repitió 3 veces. Las cuatro concentraciones 0,01-0,5, inhibieron el crecimiento del patógeno entre el 44-81%, siendo 0,01 ppm la dosis efectiva más baja.

En un segundo experimento se estudió el efecto de la combinación de esta dosis efectiva, compatible con 3 aislados de *Trichoderma spp.* (CH 101, CH 303 y CH 304.1) previamente seleccionados por nuestro grupo como agentes de biocontrol de la PB, y una dosis superior a modo de control, sobre el crecimiento de los 9 aislados del patógeno. Para ello se evaluó el mismo parámetro que en el anterior experimento, de los diferentes aislados del patógeno sembrados en medio de cultivo con el fungicida y donde previamente había crecido uno de los aislados de *Trichoderma* en cultivo de celofán. Este experimento se repitió dos veces. La combinación de Fluazinam a una dosis de 0.01 ppm con el aislado CH 101, aumentó la capacidad de inhibición sobre el patógeno, en un 13% y un 23% respecto a la aplicación individual del antagonista y del fungicida, respectivamente. Mientras que para los aislados CH 303 y CH 304.1 esta combinación no dio lugar a mayor inhibición que la que presentaban por separado *Trichoderma* y Fluazinam. Cabe destacar que para ambos experimentos, los aislados de menor virulencia (Rn 12 y Rn 49) presentaron una tolerancia al fungicida mayor que los de mayor virulencia (Rn 320 y Rn 53).

PAN-236

CONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AGUACATE MEDIANTE EL USO COMBINADO DE *Trichoderma* spp. Y FLUAZINAM

Ruano-Rosa, D.¹, Osorio-Hernández, E.², Hernández-Castillo, F. D.², López-Herrera, C. J.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. C/ Alameda del Obispo s/n 14004. Córdoba, España. E-mail: lherrera@cica.es

² Universidad Autónoma Antonio Narro, Dpto. Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Se ha ensayado la combinación de tres aislados de *Trichoderma* spp. potenciales agentes de biocontrol, con Fluazinam (FZ), fungicida de contacto, como uno de los métodos de control de la podredumbre blanca (PB) del aguacate, causada por *Rosellinia necatrix*. Se realizaron inoculaciones artificiales en plantas de aguacate cv. Topa-Topa de 6 meses de edad con aislados de *Trichoderma* spp. (CH 101, CH 303 y CH 304.1; 10 g de trigo colonizado/L de sustrato) y 14 días después una aplicación al 0,01% de FZ coincidiendo con la inoculación con cuatro aislados de *R. necatrix* de diferente virulencia: Rn 30, Rn 50, Rn 53 y Rn 320 (3,75 g de trigo colonizado/L de sustrato). Las aplicaciones del fungicida se repitieron 7 días más tarde y continuadamente cada 10 días hasta finalizar el experimento. La evolución de síntomas aéreos se evaluó semanalmente en un periodo de 38 días y la colonización del rizoplaneo y la rizosfera al final del experimento. El experimento se repitió dos veces. La aplicación de *Trichoderma* redujo parcialmente el desarrollo de la enfermedad y cuando se combinó con FZ, inhibió totalmente la misma, poniéndose de manifiesto una compatibilidad de la combinación. No obstante el uso del fungicida impidió el desarrollo de la enfermedad, no existiendo diferencias significativas entre la aplicación combinada con antagonista o la aplicación individual del fungicida. Los tres aislados de *Trichoderma* se diferenciaron significativamente en la colonización de la rizosfera. CH 101 presentó el mayor número de ufc/g de suelo ($8,34 \times 10^6$), 2 y 6 veces superior a CH 304 y CH 303, respectivamente. Sólo el aislado Rn 50 (uno de los menos virulentos), permitió una alta colonización de la rizosfera por los aislados de *Trichoderma* ensayados. Los tratamientos del antagonista con combinaciones con el fungicida generaron mayor cantidad de ufc que aquellos que no fueron combinados, sin embargo en la combinación con el aislado CH 303 se redujo sus ufc a niveles mínimos poniéndose de manifiesto la mayor sensibilidad de este aislado al fungicida. CH 304.1 presentó la mayor colonización del rizoplaneo, $2,2 \times 10^4$ ufc/g de raíz fresca, siendo significativamente 5 y 8 veces superior a las de CH 303 y CH 101, respectivamente. Los aislados más virulentos del patógeno, permitieron las más altas colonizaciones del rizoplaneo por *Trichoderma* y en este caso la aplicación de FZ sí redujo significativamente la cantidad del antagonista en el rizoplaneo (del orden de 10 veces menor). Por lo tanto se corrobora la elevada actividad de control de Fluazinam sobre la PB, y su compatibilidad con *Trichoderma*, sugiriendo nuevos ensayos con dosis más bajas del fungicida en combinación con el antagonista. Queda patente la diferencia en el efecto del fungicida sobre los aislados de *Trichoderma* en la colonización de la rizosfera y del rizoplaneo.

PAN-237

**EFFECTO DEL FORMULADO COMERCIAL MYCOSYM TRI-TON®
SOBRE EL CRECIMIENTO DE PLANTAS DE AGUACATE
Y EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA DE RAÍCES**

Ruano-Rosa, D.¹, Jordán-Ramírez, R.², López-Herrera, C. J.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC. C/ Alameda del Obispo s/n. 14004. Córdoba, España. E-mail: lherrera@cica.es

² MYCOSYM TRITON, Paseo Bollullos de la Mitación N.º 6; Parque Industrial A-49 (PIBO); 41110 Bollullos de la Mitación. Sevilla. España

La Podredumbre blanca (PB) radical, causada por *Rosellinia necatrix*, es la principal enfermedad del cultivo de aguacate en el Sur de España. Entre los métodos de control biológico, el uso de hongos formadores de micorrizas se plantea como una posible alternativa de control de la enfermedad. En este sentido hemos ensayado la formulación comercial del hongo formador de micorrizas arbusculares, *Glomus intraradices* (Mycosym TRI-TON®, MTT), en cuanto a su efecto en la germinación y desarrollo vegetativo de plantas de aguacate y en el control de la PB.

En un primer experimento se evaluó el efecto de MTT en la germinación de 200 semillas de aguacate del cv. Topa-Topa, sembradas en macetas de 1,15 L con sustrato Laura. A 100 de dichas macetas se le añadió 30mL de MTT/ L. Tras 68 días el número de semillas germinadas fue de 91 y 92 para las plantas tratadas y sin tratar con MTT, respectivamente. Sin embargo se observó una mayor rapidez en la germinación de las semillas tratadas con MTT que en las semillas control, a la vez que un leve aumento del crecimiento de las primeras, desde el principio del experimento.

En un segundo experimento se comparó el efecto de MTT, sobre el crecimiento de las plantas de aguacate, aplicado una vez (en el momento de la siembra o a los 75 días), dos veces (momento de la siembra y a los 75 días) o ninguna (control). Se utilizaron 44 plantas en cada tratamiento. No se observaron diferencias significativas en el crecimiento de las plantas a las que se les aplicó MTT, observándose mayor crecimiento en las que no habían recibido el formulado comercial.

En un tercer experimento se evaluó el efecto de la micorrización individual o doble de las plantas del experimento anterior sobre el control de la PB. Se inocularon 9 plantas por tratamiento con trigo estéril colonizado por el patógeno (3,75 g/L de sustrato). Se evaluó la evolución de síntomas aéreos semanalmente durante un periodo de 49 días. Así se observó un retraso en la aparición de síntomas en las plantas tratadas con micorrizas, que se incrementó en las que recibieron doble micorrización. Asimismo el área bajo la curva de progreso epidémico en las plantas tratadas con MTT era menor que en las plantas control, e inferior cuando la aplicación era doble.

Como conclusión la aplicación de Mycosym TRI-TON® aumentó la velocidad de germinación y produjo un leve aumento de crecimiento de las semillas de aguacate; y su doble aplicación ejerce un mayor efecto de control de la PB que una sola aplicación, independientemente del momento de ésta.

PAN-238

MANEJO INTEGRADO DEL SUELO PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS EN INVERNADEROS DE PIMIENTO

Lacasa, C.M.¹, Guerrero, M.M.¹, Martínez, V.², Ros, C.¹, Martínez, M.A.³, Beltrán, C.⁴, Lacasa, A.¹

¹ IMIDA, Mayor s/n, 30150 La Alberca (Murcia). carmenm.lacasa@carm.es

² Programa Colaboración FECOAM-CAA, c/ Caballero, 13, 30003 Murcia

³ ETSIA, UPCT, Paseo ALfonso XIII, s/n, 30202 Cartagena (Murcia)

⁴ Servicio de Sanidad Vegetal, c/ Mayor s/n 30150 La Alberca (Murcia)

La eliminación del bromuro de metilo como desinfectante de suelo ha supuesto que se planteen estrategias integradas de control de los patógenos del suelo en los invernaderos de pimiento del Campo de Cartagena (Murcia) donde *Phytophthora* spp y *Meloidogyne incognita* son los principales problemas fitosanitarios edáficos. En un invernadero comercial de más de 20 años de monocultivo ininterrumpido, con el suelo contaminado de *P. parasitica* y *M. incognita* se ha planteado un ensayo de combinación del injerto en tres patrones portadores de resistencias y la desinfección del suelo mediante biosolarización, iniciada a mediados de septiembre, con estiércol de ovino y pellets de *Brassica carinata*, vinaza de remolacha y la mezcla de ambos, teniendo como contraste el suelo desinfectado con 1,3-dicloropropeno + cloropicrina y el suelo sin desinfectar con plantas sin injertar. El control de *Phytophthora* con las plantas injertadas sobre los tres patrones en cualquiera de los tratamientos fue similar al del 1,3-D +Pic con las plantas sin injertar. Con la vinaza y los pellets y la vinaza sola se redujo la mortalidad de las plantas sin injertar (28,4% y 34,7%) en relación al suelo no desinfectado (64%). En dos de los patrones la incidencia del nematodo en todos los tratamientos fue similar a la obtenida en las plantas sin injertar del 1,3-D +Pic, mientras en el otro fue superior en el suelo biosolarizado con pellets. En las plantas sin injertar no se encontraron diferencias entre tratamientos ni en el índice de nodulación ni en el porcentaje de plantas infestadas, ni entre los tratamientos y el suelo sin desinfectar. La producción comercial en las plantas injertadas fue similar a la obtenida en el 1,3-D + Pic con plantas sin injertar. Será preciso realizar más ensayos en suelos donde se hayan seleccionado poblaciones capaces de remontar la resistencia a uno a ambos patógenos.

PAN-239

**EFFECTIVIDAD *IN VITRO* DE UN NUEVO BIO-FUNGICIDA
BASADO EN ESPORAS DE *Streptomyces lydicus* WYEC 108**

Sarro, A.¹, Lara, J.M.¹, Fernández, C.¹

¹ Futureco Bioscience SL, Parc Mediterrani Tecnologia, Esteve Terrades n.º 8, Castelldefels 08860. e-mail: carolina.fdez@futurecobioscience.com

Las enfermedades fúngicas comportan importantes pérdidas para la agricultura, siendo necesario desarrollar medidas que impidan que los hongos se establezcan en los cultivos desde los primeros estados de desarrollo. El actinomiceto *Streptomyces* se caracteriza por presentar un metabolismo complejo, siendo una de las bacterias descritas con mayor producción de antibióticos.

En este estudio, se evaluó la capacidad inhibidora del crecimiento de hongos fitopatógenos, de un nuevo principio activo (*Streptomyces lydicus* WYEC108) y su formulación ACTINOVATE SP. El objetivo fue evaluar la presencia de metabolitos con acción fungicida y determinar el tiempo mínimo en el que el producto presentaba buena capacidad preventiva de la colonización de distintos hongos patógenos. Se aplicaron dos metodologías diferentes, determinándose el efecto del biofungicida y de su ingrediente activo sobre dos hongos que afectan al sistema radicular (*Pythium ultimum* y *Fusarium oxysporum*) y dos hongos foliares (*Alternaria porri* y *Botrytis aclada*).

En el primer método, se inocularon placas de PDA con «plugs» (5x5 mm) con una colonia de *S. lydicus* WYEC 108 y se incubaron a 26 °C durante 3 ó 7 días. Transcurrido este tiempo, se introdujeron en el extremo opuesto de la placa «plugs» (5x5 mm) procedentes de placas sembradas con cada uno de los patógenos a ensayar y se incubaron 3 días más (26 °C). Al final del ensayo, se comparó el crecimiento de cada uno de los hongos patógenos inoculados en placas control o bien en placas donde previamente se había sembrado el agente de control biológico *S. lydicus* WYEC 108.

En el segundo método, se aplicó ACTINOVATE SP a la dosis comercial (0.05%) y al doble de ésta (0.1%) por medio de Torre de Potter (3 bar). Las placas fueron incubadas a 26 °C durante 3 ó 7 días. Al cabo de este tiempo, se inoculó 1mL de una suspensión acuosa de los agentes patógenos con una concentración de 10⁶ esporas/mL mediante Torre de Potter. Transcurridos 3 días de la inoculación de cada patógeno (26 °C), se comparó el crecimiento de éstos en las placas control (sólo patógeno) frente a las placas tratadas con el formulado (ACTINOVATE SP + patógeno).

Los resultados obtenidos en ambos ensayos demuestran actividad preventiva de ACTINOVATE frente a los hongos fitopatógenos evaluados, tanto del suelo como foliares, sin observar diferencias significativas entre los 3 y los 7 días.

PAN-240

**DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA RESISTENCIA
A BENZIMIDAZOLES EN *Podosphaera fusca*, AGENTE CAUSAL
DEL OÍDIO DE LAS CUCURBITÁCEAS**

Vela, D., de Vicente, A., Torés, J.A., Pérez-García, A.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Universidad de Málaga, 29071 Málaga. E-mail: dvela@uma.es

Los microtúbulos son el componente estructural de mayor importancia en células eucariotas y están implicados en un gran número de funciones como son los procesos de división nuclear y celular, el transporte, la motilidad, así como el mantenimiento de la morfología celular. Los benzimidazoles (benomilo, carbendazima, metil-tiofanato, etc) son potentes inhibidores de la polimerización de la β -tubulina de los microtúbulos en muchos hongos fitopatógenos. Debido a su gran éxito como los primeros fungicidas sistémicos con acción curativa, los benzimidazoles representan además el comienzo del serio problema de la resistencia a fungicidas. Las mutaciones más comunes que confieren resistencia a benzimidazoles son las que acontecen en los codones 198 y 200 del gen de β -tubulina, que proporcionan niveles de resistencia altos e intermedios, respectivamente. En el presente trabajo se describe la clonación del gen de β -tubulina de *Podosphaera fusca*, el principal agente causal del oídio de las cucurbitáceas y uno de los principales problemas fitosanitarios de estos cultivos, y su relación con la resistencia a benzimidazoles. El análisis comparativo de esta secuencia ha permitido la identificación en β -tubulina de la sustitución E198A en aislados de *P. fusca* con resistencia elevada a carbendazima. La identificación de la correspondiente mutación, ha permitido desarrollar un método para la amplificación específica por PCR de alelos de β -tubulina resistentes y sensibles a benzimidazoles. Esta metodología se basa en el empleo de cebadores específicos de alelo incapaces de hibridar correctamente con el alelo para el que no están diseñados. La correlación entre la detección de la mutación y el fenotipo de alta resistencia fue total. De este modo pueden identificarse rápidamente aislados resistentes a benzimidazoles sin la necesidad de realizar los tediosos ensayos *in planta* típicos para la detección de resistencia a fungicidas en hongos biotrofos. Los datos obtenidos hasta la fecha revelan una amplia distribución de la resistencia en benzimidazoles en las poblaciones de *P. fusca* del sur de España.

* Este trabajo ha sido financiado por el Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL07-65340-C02-01), cofinanciado con fondos FEDER (EU). David Vela agradece al MICIN la concesión de una beca FPI.

PAN-241

**CULTIVO AUTOTRÓFICO *IN VITRO* DE PORTAINJERTOS DE FRUTAL
PARA EVALUAR SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A *Rosellinia necatrix*
Y RESPUESTA A LA MICORRIZACIÓN**

Nogales, A.¹, García-Figueres, F.², Camprubí, A.¹, Estaún, V.¹, Calvet, C.¹

¹ Dep. Protecció Vegetal. Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries. IRTA. 08348 Cabrils, Barcelona

² Laboratori de Sanitat Vegetal. DARP. Generalitat de Catalunya. 08040 Barcelona

El hongo patógeno *Rosellinia necatrix* Prill (Ana. *Dematophora necatrix* Hartig) es una de las principales causas de la podredumbre blanca de raíz en numerosas especies de árboles frutales incluyendo almendros, perales, ciruelos y manzanos. Hasta el momento, no existen medidas de control efectivas una vez que el patógeno está instalado en el suelo, y tampoco existen portainjertos resistentes, aunque los ensayos realizados en condiciones controladas revelan distintos grados de susceptibilidad entre ellos, que además pueden variar si el sistema radical está micorrizado.

El establecimiento de sistemas de cultivo autotrófico *in vitro* es un dispositivo experimental útil para estudiar la respuesta de las plantas frente a estreses tanto bióticos como abióticos en un periodo de tiempo corto. Este sistema se está adecuando a portainjertos de frutales micropropagados y se están realizando dos experimentos con el objetivo de evaluar su susceptibilidad frente a *R. necatrix* y a la vez valorar su respuesta a la micorrización.

En el primero, se están adaptando al cultivo autotrófico cinco materiales híbridos utilizados para melocotón y ciruela, y como inóculo patogénico se está utilizando una cepa de *R. necatrix* aislada de un suelo de replante de frutal fuertemente infestado. La virulencia de esta cepa *in vivo* ha sido demostrada en diferentes combinaciones portainjerto-variedad.

En el segundo, se está estudiando la interacción micorriza-patógeno utilizando la misma cepa de *R. necatrix* y el hongo formador de micorrizas arbusculares *Glomus intraradices* Schenk y Smitih BEG72 en el sistema de cultivo *in vitro* adaptado a dos de los portainjertos, los que han resultado ser el más susceptible y el más tolerante respectivamente en los ensayos de patogenicidad.

* Financiación: proyecto RTA 04-027-C2 y proyecto ACI-INDIA-2009-0921.

PAN-242

**SISTEMAS ECOLÓGICOS DE DESINFECCIÓN DE MADERA
Y SU APLICACIÓN EN EL CASO DE *Fusarium circinatum* Y
*Diplodia pinea***

Quintana, E., Mesanza, N.e Iturritxa, E.

Neiker-Tecnalia. Granja Modelo de Arkaute. Apdo. 46. 01080 Vitoria. Álava

Las enfermedades causadas por *Diplodia pinea* y *Fusarium circinatum* suponen dos problemas importantes en la contaminación de madera, la primera como agente causante de azulado de la madera y la segunda como patógeno contra el que se han definido medidas de erradicación en las que se garantiza evitar vías de dispersión de la enfermedad.

El principal objetivo de este estudio es definir un sistema efectivo de desinfección de madera infectada con *Diplodia pinea* y *Fusarium circinatum*.

La compañía de ingeniería Bengolako diseñó y construyó un prototipo de autoclave prismático de inmersión, con carga superior, para la realización de ensayos de desinfección de madera infectada con estas dos especies fúngicas.

Este sistema permite la apertura del autoclave sin la necesidad de vaciar el líquido. Este hecho acorta los ciclos de tiempo de tratamiento ya que no se precisa el desplazamiento del volumen de líquido. Al estar completamente lleno de líquido el tiempo que se precisa para conseguir la presión de vacío es menor. Los ciclos de impregnación se pueden completar en 12 minutos.

En este ensayo se testa la impregnación de la madera aplicando una temperatura de 56 ± 5 para la desinfección de *Diplodia pinea* y *Fusarium circinatum*.

Los resultados obtenidos sugieren que se trata de un tratamiento prometedor desde el punto de vista económico y ambiental, con la posibilidad de incrementar su eficacia mediante la utilización de sustancias de origen natural como los aceites esenciales.

PAN-243

**MOVILIDAD Y PERSISTENCIA DEL AGENTE DE BIOCONTROL
Penicillium oxalicum EN CULTIVOS DE TOMATE
EN CAMPO E INVERNADERO**

Vázquez, G., De Cal, A., Melgarejo, P., Larena, I.

Departamento de Protección Vegetal, CIT-INIA, Carretera de La Coruña 7,500, 28040 Madrid. E-mail: ilarena@inia.es

Penicillium oxalicum (PO) ha demostrado ser un eficaz agente de control biológico (ACB) frente a diferentes enfermedades de plantas hortícolas. El efecto protector de muchos ACB está relacionado estrechamente con su capacidad de colonización de tal modo que la evaluación de su supervivencia tras su aplicación es crítica para su eficacia frente a la enfermedad. Sin embargo, conviene tener en cuenta que el ACB en la zona de aplicación sólo puede mantenerse (persistencia) durante el período necesario para el control del patógeno a fin de minimizar los riesgos medioambientales que puedan derivarse de su presencia en el ecosistema. Por tanto, para evaluar el riesgo de la aplicación PO sobre los suelos de cultivo se estudió su movilidad tanto horizontal como vertical y su persistencia en el ambiente.

Para llevar a cabo este trabajo se han realizado ensayos experimentales en invernadero en ausencia del agente patógeno con turba estéril y ensayos comerciales al aire libre con inoculación natural del patógeno. Se emplearon plantas de tomate tratadas en semillero con PO 7 días antes del trasplante. Los tratamientos fueron: plantas control (no tratadas), plantas tratadas con conidias secas de PO y plantas tratadas con un formulado de PO. En ambos tipos de ensayos se evaluaron 2 parámetros: la movilidad tanto horizontal (0-15 y 16-30 cm de la planta) como vertical (0-2,5 y 2,6-5 cm de profundidad) y la persistencia. Para ello se estimaron cada 15 días desde el trasplante hasta 106 d en invernadero y 180d en campo: (i) la viabilidad de PO en el suelo mediante crecimiento de PO en medio semiselectivo, y (ii) la detección y cuantificación de PO en suelo mediante PCR en tiempo real. Esta metodología ha sido puesta a punto en nuestro laboratorio y presentada en este congreso, siendo la base para la realización de este trabajo.

Los resultados muestran que la movilidad horizontal y vertical de las conidias formuladas de PO es mayor que la de las conidias secas tanto en campo como en invernadero. Mientras que tanto las conidias secas como las formuladas de PO sobreviven durante menos tiempo en campo que en invernadero, no detectándose diferencias entre las conidias formuladas y las secas.

PAN-244

ANÁLISIS DEL RIESGO DE APLICACIÓN DEL AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO *Penicillium oxalicum* EN SUELO

Vázquez, G.¹, Melgarejo, P.¹, Mallorqui, M.², Martínez-Alonso, M.², Gaju, N.² y Larena, I.¹

¹ Departamento de Protección Vegetal, CIT-INIA, Carretera de La Coruña 7,500, 28040 Madrid. E-mail: ilarena@inia.es

² Departamento de Genética y Microbiología. Facultad de Biociencias. UAB. 08193 Bellaterra, Barcelona. E-mail: nuria.gaju@uab.es

En el proceso de registro y comercialización de un agente de biocontrol (ACB) un aspecto importante es la valoración del riesgo medioambiental que supone su aplicación, teniendo en cuenta que la introducción de un ACB en un ambiente natural, no sólo implica una actuación sobre su diana sino también sobre otros microorganismos indígenas. Este tipo de análisis tiene un gran interés, sobre todo en el contexto de la directiva comunitaria de productos fitosanitarios (91/414/CEE). Una técnica cuyo desarrollo ha permitido importantes avances en estudios de ecología microbiana, ha sido la DGGE (electroforesis en geles de gradiente desnaturalizante) que permite estudiar las variaciones de las poblaciones dominantes de microorganismos presentes en una muestra (ya sea suelo o material vegetal) a lo largo del tiempo. *Penicillium oxalicum* (PO) es un eficaz ACB frente a enfermedades vasculares de plantas hortícolas, melón y sandía. También ha sido demostrada su eficacia sobre el oidio de la fresa causado por *Sphaeroteca macularis* f. sp. *fragariae*.

En este trabajo nos planteamos analizar las variaciones en las poblaciones de microorganismos (hongos y bacterias) en suelo mediante DGGE tras la aplicación de PO, para lo cual se realizaron PCR convencionales utilizando cebadores universales para los genes del 16S y 18S RNA ribosómicos de bacterias y hongos, respectivamente. Se planteó un ensayo en una parcela comercial de cultivo de tomate en Villaviciosa de Odón (Madrid). Se trasplantaron plantas de tomate que fueron tratadas en semillero con PO, 7 días antes del trasplante. Se tomaron muestras de suelo a los 0, 90 y 180 días desde el trasplante. Los 180 días corresponden a la finalización del cultivo del tomate. A partir del ADN extraído de esas muestras de suelo se optimizaron las condiciones de PCR para diferentes combinaciones de cebadores usados para permitir la amplificación eficiente del DNA fúngico y bacteriano obtenido desde esos suelos. Finalmente se determinaron las condiciones óptimas de DGGE para cada uno de los tipos de fragmentos obtenidos con las combinaciones de cebadores seleccionados. Los patrones o perfiles genéticos resultantes nos muestran la diversidad de la comunidad microbiana en suelo y su respuesta a la introducción del ACB. Se discutirán los resultados obtenidos tras la aplicación de PO a suelos naturales a lo largo de 180 días desde su aplicación.

PAN-245

EFICACIA DE INÓCULOS HIPOVIRULENTOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Cryphonectria parasitica* EN CASTAÑOS DE GALICIA

Aguín, O.¹, Montenegro, D.¹, Sainz M.J.², Mansilla, J.P.¹

¹ Estación Fitopatológica do Areeiro. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra. E-mail: olga.aguin@depo.es

² Departamento de Producción Vegetal. Universidad de Santiago de Compostela. Campus de Lugo. 27002 Lugo. E-mail: mj.sainz@lugo.es

La incidencia y severidad del cancro en los castaños de Galicia es alta. Las poblaciones gallegas de *Cryphonectria parasitica*, ascomiceto causante de la enfermedad, tienen baja diversidad de tipos de compatibilidad vegetativa (vc), reproducción predominantemente asexual y una baja presencia de cepas hipovirulentas, pero compatibles con las virulentas dominantes. Estas características son muy favorables para implementar con éxito técnicas de control biológico del cancro. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia de inóculos hipovirulentos de *Cryphonectria parasitica* para controlar la enfermedad en castaños sintomáticos. En 2008, se seleccionaron 33 castaños afectados por cancro localizados en la provincia de Pontevedra. Se obtuvieron aislados a partir de muestras de corteza recogidas en 38 lesiones, que fueron todos virulentos y pertenecientes a tres tipos vc. Utilizando tres aislados hipovirulentos de la colección de la EFA, compatibles con uno de cada tipo vc, se prepararon tres inóculos, sobre una base semisólida, con el micelio del aislado hipovirulento correspondiente. En campo, alrededor de cada uno de los 38 cancos, se realizaron agujeros de 1 cm de diámetro separados entre ellos 5 cm. Cada hueco se rellenó con el inóculo hipovirulento correspondiente al tipo vc del aislado virulento detectado en la lesión. En el momento de la inoculación, se clasificó el tipo de cancro y se midió su largo y ancho. Dos años después de la aplicación del inóculo hipovirulento, en 35 de los 38 cancos inoculados, se observó una mejoría significativa de la lesión, ya que no hubo avance de la enfermedad y, en la mayoría de las zonas afectadas de los árboles el cancro había evolucionado del tipo activo al cicatrizado.

PAN-246

**ENSAYO DE FUNGICIDAS *IN VITRO*
PARA EL CONTROL DE *Phytophthora alni***

Mansilla, J.P., Rial, C. y Pintos, C.

Estación Fitopatológica Do Areeiro. Deputación de Pontevedra. Subida a la robleda s/n. 36153. Pontevedra. E-mail: cpintos@efa-dip.org

En julio de 2009 la EFA identifica por primera vez en España, *Phytophthora alni* subsp. *alni*, en una muestra de *A. glutinosa* procedente de la provincia de Ourense. Posteriormente, tras un amplio muestreo en Galicia, el patógeno se detecta en las cuatro provincias gallegas. Debido a la poca información disponible para el control de *Phytophthora alni*, y con el propósito de aportar nuevos datos para el control químico de este patógeno, en la EFA, se han llevado a cabo una serie de ensayos en laboratorio para evaluar y comparar el efecto *in vitro* de distintas materias activas sobre el crecimiento micelial de *P. alni* subsp. *alni*.

Los fungicidas testados fueron: azoxistrobin 250 g/l (Quadris 25 SC, Syngenta Agro, Madrid), benalaxil Tec 965 g/kg, dimetomorf 150 g/l (Forum® DC, BASF SE, Alemania), fosetil-AI 800 g/kg (Aliette 80 WP, Bayer Environmental Science, Valencia), iprovalicarb 500 g/kg (Bayer CropScience), metalaxil 465 g/l (Ridomil Gold SL, Syngenta Agro, Madrid), propamocarb 605 g/l (Previcur, Aventis CropScience España S.A., Valencia) y piraclostrobin 250 g/l (Cabrio, BASF Aktiengesellschaft, Alemania). Cada fungicida fue testado a cuatro concentraciones diferentes, entre 1 y 1000 ppm.

Los mejores resultados de inhibición fueron alcanzados con dimetomorf, iprovalicarb y metalaxil con un 100% de inhibición del crecimiento micelial a la dosis de solo 1 ppm, sugiriendo su potencial eficacia para controlar *P. alni*. Con el resto de las materias activas no se inhibió el crecimiento micelial a la concentración de 10 ppm por lo que se consideran ineficaces para el control del patógeno. Se comprobó que las materias activas dimetomorf (10, 100 y 1000 ppm), iprovalicarb (100 y 1000 ppm) y metalaxil (1000 ppm) producían un efecto fungicida a las concentraciones indicadas, mientras que a concentraciones menores presentaban efecto fungistático (dimetomorf 1 ppm, iprovalicarb 1 y 10 ppm y metalaxil 1, 10 y 100 ppm).

Actualmente se están llevando a cabo diferentes ensayos para el control biológico de *P. alni* con *Trichoderma atroviride*, *Streptomyces lydicus* y *Coniothyrium minitans*. Una vez concluidos los ensayos será necesario testar en campo los productos con los que se obtengan los mejores resultados, junto con las tres materias activas que resultaron eficaces en el ensayo *in vitro*, para poder evaluar la eficacia real de los tratamientos en el control de *Phytophthora alni*.

PAN-247

**EFFECTO DE LA INOCULACIÓN FOLIAR
DE RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL
EN REMOLACHA AZUCARERA**

Sacristán, G.¹, Reguera, J.I.¹, López-Robles, D. J.², Olalla, C.², García-Villaraco, A.³, Gutiérrez-Mañero, F. J.³

¹ Área de Microbiología, ²Área de Edafología y Química Agrícola, Facultad de Ciencias, Universidad de Burgos. E-mail: gsacristan@ubu.es

³ Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo CEU. Boadilla del Monte. Madrid

La producción agrícola tradicional emplea elevadas cantidades de insumos fitosanitarios, utilizando, en ocasiones, de forma masiva e irracional agentes químicos para el control de las múltiples plagas y enfermedades que afectan a los cultivos vegetales. Esta utilización masiva implica graves riesgos no solamente para los sistemas agrarios y para el medio ambiente que los sustenta, sino también en aspectos relacionados con la calidad de los alimentos y la salud de los consumidores. Surge, por tanto, la necesidad de buscar prácticas alternativas para el control de enfermedades vegetales y plagas de cultivos tales como el control biológico empleando microorganismos antagonistas. Entre estos microorganismos, se han empleado varias rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) contra diversas enfermedades vegetales. El cultivo de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) es uno de los cultivos industriales más importantes en Castilla y León, viéndose afectado por varios tipos de patógenos durante todo su ciclo productivo, tales como bacterias, hongos, virus e incluso nematodos. Dos hongos patógenos foliares que atacan notablemente al mencionado cultivo son *Cercospora beticola* (cercospora) y *Erysiphe betae* (oidio). En el presente trabajo se estudió el efecto de la pulverización foliar de hojas de remolacha azucarera con un caldo de *Pseudomonas fluorescens* Aur6 y Aur9 (ensayos TB). Ambas cepas son consideradas PGPR. También se realizaron otros ensayos TT (producción tradicional con tratamiento químico) y ensayos ST (producción tradicional sin tratamiento químico) para estudiar las diferencias existentes entre ellos. Se realizaron cuatro réplicas por tratamiento en parcelas experimentales situadas en Pedrosa del Rey (Valladolid). El mayor grado de infección de oidio y cercospora se encontraron en el día 2 de muestreo (17/09/2009). El mayor índice de infección del día 3 por cercospora se encontró en el ensayo TT (67,45%), mientras que en los ensayos ST y TB fueron de 59,37% y 56,37%, respectivamente. Mientras que el mayor grado de severidad de oidio se registró en el ensayo TT (73,38%), en los ensayos TB y ST fueron de 66,27% y 66,25%. De los resultados obtenidos, se desprende que parece viable la posibilidad del empleo de PGPR para el control de patógenos foliares en remolacha azucarera. De esta manera se reducirían notablemente los impactos ambientales así como los costes económicos derivados de la producción agrícola.

PAN-248

**ACTIVIDAD ESPORICIDA DE UNDECAPÉPTIDOS SINTÉTICOS
Y CONTROL DE LA PODREDUMBRE AZUL CAUSADA
POR *Penicillium expansum* EN MANZANA**

Francés, J.¹, Badosa, E. ¹, Ferré, R.², Bardají, E.², Feliu, L.², Planas, M.², Montesinos, E.¹

¹ Laboratorio de Patología Vegetal, Instituto de Tecnología Agroalimentaria-CIDSAV-XaRTA-Universidad de Girona. E-mail: jesus.frances@udg.edu

² LIPPSO. Departamento de Química, Universidad de Girona. Campus Montilivi 17071. Girona

Los péptidos antimicrobianos sintéticos ofrecen buenas expectativas en un futuro para el control de enfermedades en las plantas. En este trabajo se determinó la actividad esporicida frente a hongos de compuestos pertenecientes a una quimioteca de undecapéptidos lineales derivados de cecropina-melitina, denominada CECMEL11, obtenida mediante química combinatoria, algunos de los cuales habían mostrado una elevada actividad frente a bacterias fitopatógenas. Una selección de 15 péptidos pertenecientes a esta librería se ensayaron frente a *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer*. Los mejores péptidos se utilizaron en ensayos para la determinación de su actividad esporicida y de incorporación de SYTOX green en microconidias de *F. oxysporum* para establecer el mecanismo de acción.

Posteriormente, se evaluó la actividad *in vitro* frente a *P. expansum* de los 125 péptidos que componen la librería CECMEL11 y que presentan la estructura general R-X¹KLFFKILKX¹⁰ L-NH₂, donde X¹ y X¹⁰ corresponden a aminoácidos con distintos grados de hidrofobicidad e hidrofiliidad, y R incluye distintas derivatizaciones N-terminales. Quince de los péptidos mostraron una MIC menor que 6.25 µM, y los mejores péptidos fueron BP21 {Ac, F, V} y BP34 {Ac, L, V}, de acuerdo con la nomenclatura {R, X¹, X¹⁰}.

Siete de estos péptidos se ensayaron para evaluar su eficacia en la prevención de la infección de *P. expansum* en manzanas de la variedad Golden, en comparación con la formulación comercial del fungicida imazalil.

En los dos experimentos realizados los péptidos BP21 {Ac, F, V}, BP22 {Ts, F, V}, BP23 {Bz, F, V}, BP29 {Ac, K, V}, BP34 {Ac, L, V}, BP37 {Bn, L, V} y BP71 {H, Y, F} sin formulación, aplicados a una dosis de 300 µM (la misma que el fungicida imazalil), mostraron una disminución significativa de la podredumbre causada por *P. expansum* con respecto al control no tratado, y sólo ligeramente inferior que la formulación de fungicida comercial.

* Este trabajo ha sido financiado en parte por los proyectos AGL2009-13255-C02-01; AGL2009-13255-C02-02 y PPT-060000-2008-2.

PAN-249

**ESTUDIO DE LA COMPATIBILIDAD DE *Paecilomyces lilacinus*
CON NEMATODOS ENTOMOPATÓGENOS
(Rhabditida: Steinernematidae y Heterorhabditidae)**

Abelleira, A.¹, Picoaga, A.¹, Mansilla, J.P.¹

Estación Fitopatológica do Areeiro¹. Deputación de Pontevedra. Subida a la Robleda s/n. 36153 Pontevedra. España. E-mail: adela.abelleira@depo.es

Paecilomyces lilacinus es un nematocida biológico que actúa parasitando huevos y hembras de diversos géneros de nematodos fitopatógenos como *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp. o *Dytilenchus* spp, causando malformaciones ováricas y limitando la eclosión de los huevos.

Los nematodos entomopatógenos (NEPs) de los géneros *Steinernema* y *Heterorhabditis* son agentes de control biológico que se utilizan para luchar contra numerosas plagas de insectos en un amplio rango de cultivos.

El objetivo de este estudio es evaluar la influencia de *Paecilomyces lilacinus* en la eficacia y supervivencia de las especies de nematodos entomopatógenos *Steinernema feltiae*, *S. carpocapsae* y *Heterorhabditis bacteriophora*, comúnmente utilizadas en el control biológico de plagas.

Para ello se realizó un estudio de mortalidad en laboratorio inoculando con una solución acuosa de un formulado comercial de *Paecilomyces lilacinus*, botes con 100 g de tierra estéril a 2 concentraciones: 2×10^6 conidias viables/ g de tierra y 2×10^7 conidias viables/ g de tierra. A continuación se añadieron 5000 juveniles infectivos de *S. feltiae*, *S. carpocapsae* y *H. bacteriophora* diluidos en 1 ml de agua destilada. Se incubaron a 24 °C y al cabo de 3, 7 y 14 días se extrajeron los juveniles infectivos y se realizó un recuento para observar el número de nematodos recuperados. Este experimento se realizó dos veces con tres repeticiones por tratamiento.

También se llevó a cabo un estudio de la eficacia de los nematodos entomopatógenos expuestos al producto de *Paecilomyces lilacinus*, contra larvas de *Galleria mellonella*. Para ello se inocularon botes con tierra estéril con las dos concentraciones de *Paecilomyces lilacinus* y las tres especies de NEPs citadas anteriormente y se incubaron a 24 °C durante 3 días, tras los que se introdujeron las larvas de *G. mellonella*. Al cabo de 2 días se revisaron los botes, anotando el número de larvas de *G. mellonella* muertas por el ataque de NEPs, para conocer la eficacia de los juveniles infectivos inoculados, en presencia o ausencia del nematocida biológico. Este experimento se llevó a cabo dos veces con 5 repeticiones por tratamiento.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que a pesar de que si se ha observado una disminución en el número de NEPs aplicados, estos permanecen viables y eficaces en contacto con el formulado comercial de *Paecilomyces lilacinus*.

PAN-250

APLICACIÓN DE PURÍN DESHIDRATADO PARA EL CONTROL DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS EN UN AGROECOSISTEMA

Olalla, C.¹, López Robles D.J.¹, Fernández Peña M.¹, González Carcedo S.¹, Sacristán, G.², Reguera, J.I.²

Áreas de Edafología y Química Agrícola¹ y Microbiología². Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos. Plaza Misael Bañuelos s/n. 09001. Burgos. E-mail: djlopez@ubu.es

La adición de materia orgánica residual puede ejercer un efecto controlador de las poblaciones de nematodos fitoparásitos pudiendo ser al mismo tiempo una fuente importante de nutrientes y contribuir al incremento de la materia orgánica en el suelo. El objetivo de este trabajo es evaluar los efectos de la aplicación de la fracción sólida de purín de porcino deshidratado en los grupos fitoparásitos de la nematofauna edáfica existentes en un suelo de uso agrícola sometido a un sistema de cultivo de labranza convencional (LC).

La finca experimental se localizó en el municipio de San Martín de Rubiales (Burgos); se aplicó purín deshidratado y se siguió una rotación de cultivos de patata (*Solanum tuberosum*) y cebada (*Hordeum vulgare*). La finca agrícola se subdividió en parcelas desarrollando un diseño factorial por bloques con cinco unidades de repetición. Se aplicaron 1 (P_1), 2 (P_2) y 4 (P_3) t ha⁻¹ de purín deshidratado y dos controles, uno en el que no se añadieron purines ni fertilización alguna (C) y otro al que se añadió fertilización mineral (I).

En el transcurso de la experiencia se realizaron varios muestreos, determinándose la abundancia de las diferentes especies de nematodos fitoparásitos presentes en el suelo así como la evolución de las mismas. Además de determinó si los tratamientos aplicados y las épocas de muestreo influyen significativamente en las poblaciones de nematodos fitoparásitos analizadas.

G. rostochiensis y *H. schachtii* son las especies de nematodos fitoparásitos formadores de quistes que se han localizado en esta finca.

Para *G. rostochiensis* se obtuvieron resultados estadísticamente significativos para ambos factores, mientras que para *H. schachtii* se obtuvo significación estadística únicamente para las épocas en las que se realizaron los muestreos.

El tratamiento más eficaz en la reducción de las poblaciones de *G. rostochiensis* fue la dosis media (P_2) de purín deshidratado. Respecto a la época de muestreo, las poblaciones de ambas especies, se redujeron de forma significativa en el último muestreo.

Como conclusión, se puede afirmar que la adición de purín deshidratado como fuente de materia orgánica exógena, puede ser usado eficazmente en el manejo de las poblaciones de este tipo de nematodos y puede considerarse como una herramienta complementaria a la rotación de cultivos.

PAN-251

**MECANISMOS DE ACCIÓN Y DETERMINANTES BACTERIANOS
IMPLICADOS EN LA CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE *Bacillus
subtilis* FRENTE A ENFERMEDADES BACTERIANAS Y FÚNGICAS DE
CUCURBITÁCEAS**

Zerrouh, H., Romero, D., García-Gutiérrez, L., de Vicente, A., Pérez-García, A.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Microbiología, Universidad de Málaga, 29071 Málaga. E-mail: hzerrouh@uma.es

Diversas especies del género *Bacillus* representan una alternativa atractiva para el control de enfermedades microbianas por su gran capacidad antagonista mediante la producción de compuestos antimicrobianos, por su gran capacidad de colonización de las plantas y por su capacidad de inducción de resistencia sistémica en las plantas. Además, la producción de esporas permite una fácil formulación para propósitos comerciales. Entre los antibióticos producidos por *Bacillus*, los lipopéptidos están recibiendo una atención especial, ya que parecen contribuir al control de las enfermedades mediante diferentes mecanismos de acción. En nuestro laboratorio, se seleccionaron dos cepas de *Bacillus subtilis* (UMAF6614 y UMAF6639) por su capacidad antagonista frente a un amplio rango de hongos y bacterias fitopatógenas. En trabajos anteriores se demostró que estas dos cepas de *B. subtilis* producían las tres principales familias de lipopéptidos (fengicinas, iturinas y surfactinas), y se confirmó la implicación de fengicinas e iturinas en la capacidad de control de oídio de cucurbitáceas (*Podosphaera fusca*), mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*) y podredumbre blanda (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*). En ningún caso, las surfactinas mostraron actividades antifúngica o antibacteriana, sin embargo, no hemos descartado la implicación de surfactinas en la capacidad de control de estas dos cepas. El principal objetivo de este trabajo es evaluar el papel de surfactinas en la capacidad de colonización de superficies de hojas y frutos de cucurbitáceas. Para ello, se obtuvieron mutantes defectivos en la producción de surfactina. Los estudios que se están llevando a cabo con estas cepas de *B. subtilis* y sus mutantes respectivos incluyen dinámica de poblaciones, microscopía electrónica de barrido, así como ensayos de biocontrol con hojas de melón y frutos de calabacín frente a hongos y bacterias fitopatógenas.

* Este trabajo ha sido financiado por el Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL07-65340-C02-01), cofinanciado con fondos FEDER (EU).

PAN-252

**REDUCCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ARTRÓPODOS VISITANTES
Y DE VECTORES VIRALES MEDIANTE ESTRATEGIAS BASADAS
EN EL USO DE PINTURA INSECTICIDA INESFLY® IGR Fito**

Corrales, A.R.¹, Vidal, E.¹, Gorris, M.T.¹, Bertolini, E.¹, López, J.³, Moreno, A.², Cambra, M.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera de Moncada-Náquera km 5. 46113 Moncada, Valencia. E-mail: mcambra@ivia.es

² Departamento de Protección Vegetal. Instituto de Ciencias Agrarias CCMA-CSIC. Serrano 115. 28006, Madrid. E-mail: amoreno@ccma.csic.es

³ INESFLY Ingeniería de Salud. Camino de Pasqualeta s/n, 46200 Paiporta, Valencia. E-mail: jesus.lopez@disi.e.telefonica.net

Los artrópodos visitantes de plantas cultivadas frecuentemente están asociados con la transmisión de virus. Se han evaluado diferentes estrategias basadas en el uso de la pintura insecticida INESFLY® IGR Fito, polímero tipo Veo-va que contiene clorpirifos micro-encapsulado, para disminuir las poblaciones de artrópodos que aterrizan sobre plantas cultivadas y su efecto sobre la incidencia de algunas enfermedades virales.

Se han realizado ensayos en cultivos en invernaderos cerrados y provistos de malla anti-pulgón del IVIA, donde se pintaron bancadas con pintura blanca control y con INESFLY® IGR Fito. El monitoreo de artrópodos visitantes se realizó con trampas cromotrópicas. En el primer trimestre se observó una reducción significativa en el número de artrópodos presentes en volúmenes de invernadero con bancadas pintadas con la pintura insecticida con respecto al control. En un segundo trimestre no se observaron diferencias entre los tratamientos. En otros ensayos realizados en viveros de cítricos localizados en invernaderos y al aire libre en Alcanar (Tarragona), se colocaron de manera aleatoria bandas de plástico colgadas de la estructura impregnadas con pintura insecticida, con pintura control y sin tratamiento, al nivel de las plantas o al aire libre se colocaron lonetas impregnadas con pintura control o insecticida entre las líneas de cultivo. La cuantificación e identificación de artrópodos visitantes por planta se realizó mediante el método del brote pegajoso. Se detectó, en ambos casos, una reducción significativa en el número de pulgones y otros insectos visitantes, en las plantas situadas entre las bandas impregnadas con pintura insecticida o cerca de lonetas tratadas, aunque la incidencia del virus de la tristeza de los cítricos fue similar en bloques tratados y no tratados al aire libre. En viveros de patrones de frutales de hueso en Bélgica (Valencia), se detectó el mismo efecto anterior y una disminución del número de plantas infectadas por el virus de la sharka (transmitido de forma no-persistente).

El uso de pintura INESFLY® IGR Fito es una alternativa de control de artrópodos visitantes, sin residuos, que puede disminuir significativamente la incidencia de algunos virus transmitidos por vectores.

PAN-253

PROPUESTA DE UN NUEVO ESQUEMA DE CERTIFICACIÓN SANITARIA DE PATRONES Y VARIEDADES DE VID QUE INCLUYE ANÁLISIS POR PCR A TIEMPO REAL

Olmos, A., Cambra, M., Bertolini, E.

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada a Náquera km 5, 46113 Moncada, Valencia. E-mail: aolmos@ivia.es

El cultivo de la vid (uva de mesa y uva de vinificación) es socio-económicamente muy importante en España (1.200.000 ha cultivadas) que tras Italia y Francia produce aproximadamente 6.500.000 t. El cultivo está presente en todas las provincias españolas, y representa el 2,4% de la superficie total geográfica española. Las virosis pueden causar pérdidas importantes de hasta un 80% en la producción afectando también a la calidad de la uva. La legislación española sólo contempla los ensayos biológicos y análisis serológicos ELISA para la detección y diagnóstico de virus de vid.

La principal causa de la dispersión de las virosis de vid a larga distancia es el empleo de material vegetal infectado que ha escapado a los sistemas tradicionales de control y que actúa como fuente de inóculo. Por ello se requiere un sistema preciso para la certificación del estado sanitario.

Según la Directiva UE 2002/11/CE «el material vegetativo de propagación de vid debe mantenerse al nivel más bajo posible de agentes fitopatógenos». En el anexo técnico se revela que para la Comisión Europea el más bajo nivel de virosis en vid corresponde únicamente a la ausencia de GFLV, ArMV, GLRaV-1, GLRaV-3 y GFkV (en este caso sólo para patrones). Ninguna mención a otros virus de impacto como GLRaV-2 o los asociados a la madera rizada que están implicados en pérdidas económicas severas. Estas tolerancias suponen un problema para un control real de las virosis, requiriéndose una actuación más eficaz que debería seguir las recomendaciones del International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine establecidas en Locorotondo (Italia) en 2003. Existe interés en el sector para mejorar el estado sanitario de la viñas en lo que se refiere a virus y a otros agentes transmisibles por injerto.

Se propone un esquema o protocolo de certificación sanitaria basado en el empleo de PCR a tiempo real como alternativa a los ensayos biológicos y ELISA, para aquellos virus claramente conocidos, así como la inclusión de los nueve virus más importantes por su impacto económico y agronómico: GFLV, ArMV, GLRaV-1, GLRaV-2, GLRaV-3, GFkV, GRSPaV, GVA, GVB y GVD.

La aplicación de un esquema moderno de identificación de virus en vid permitirá un mejor control y garantía del estado sanitario, implicando un incremento en la calidad de la uva de mesa, reduciendo el comportamiento errático de la producción de uva de vinificación.

PAN-254

**PRODUCCIÓN DE MATERIAL VEGETAL DE VID LIBRE DE VIRUS
BASADO EN PCR A TIEMPO REAL Y CULTIVO DE ÁPICES CAULINARES
IN VITRO**

Olmos, A.¹, Juárez, J.¹, García, J.², Bertolini, E.¹, Giménez, J.², Martínez, A.², Yuste, A.³, Navarro, L.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Ctra Moncada a Náquera km 5, 46113 Moncada, Valencia. Email: aolmos@ivia.es

² Instituto Tecnológico de Viticultura y Enología de la Generalitat Valenciana. Valentín García Tena 1, 46340 Requena, Valencia

³ Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo. Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

Las prospecciones realizadas en diferentes regiones vitivinícolas con denominación de origen (D.O. Valencia, D.O. Utiel-Requena y D.O. Alicante) y en zonas productoras de uva de mesa (D.O. Uva de mesa embolsada Vinalopó), mediante ELISA y PCR a tiempo real, demuestran una gran incidencia de virosis con prevalencias en muchas ocasiones superiores al 70% para virus contemplados en la legislación española, como el virus del entrenudo corto infeccioso (*Grapevine fanleaf virus* - GLFV) o los virus asociados al enrollado 1 y 3 (*Grapevine leafroll associated virus 1* - GLRaV-1 y *Grapevine leafroll associated virus 3* - GLRaV-3). Ante la problemática de las virosis y como respuesta a la solicitud del sector que reclama variedades tradicionales libres de virus, se ha iniciado un programa de producción de material vegetal partir de clones seleccionados de variedades de uva de mesa y de variedades de uva de vinificación.

La metodología se basa en el cultivo de ápices caulinares *in vitro*, realizado a partir del meristemo apical y dos primordios foliares. Posteriormente las plantulas se enraizan para luego pasarlas a maceta. Las plantas de vid se analizan por PCR a tiempo real empleando sondas TaqMan, para los virus recogidos en la legislación española (GFLV, *Arabidopsis mosaic virus* - ArMV, *Grapevine fleck virus* - GFkV, GLRaV-1 y GLRaV-3), y además para el *Grapevine leafroll associated virus 2*, y para los virus asociados al complejo de la madera rizada como los *Vitivirus A* y *Vitivirus B*. Los análisis se realizan en dos periodos vegetativos diferentes. En crecimiento vegetativo activo, se analizan las plantas para los virus GFLV y GFkV, empleando como muestra hojas tomadas alrededor de la planta. En reposo invernal, se emplea como muestra madera de poda, analizándose el resto de virus .

Siguiendo esta metodología se han producido cabezas de clon libres de estos virus de las variedades Ideal, Aledo, Bobal, Merseguera, Monastrell, Tempranillo y Moscatel. En la actualidad, se está estudiando el comportamiento agronómico y la calidad de la uva producida por estos clones, en parcelas experimentales.

PAN-255

IMPACTO DE MALLAS FOTOSELECTIVAS EN LA DISPERSIÓN SECUNDARIA DE TYLCV EN CULTIVO DE TOMATE

Legarrea, S.¹, Fraile, A.², García-Arenal, F.², Plaza, M.¹, Mora, M.A.², Fereres, A.¹

¹ Instituto de Ciencias Agrarias ICA-CSIC. c/ Serrano 114 bis, 28006, Madrid. E-mail: afereeres@ccma.csic.es

² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas UPM-INIA Campus Montegancedo 28223 Pozuelo de Alarcón, Madrid.

La enfermedad del enrollado de la hoja del tomate (*Tomato yellow leaf curl disease*, TYLCD) que reduce de manera notable la producción de este cultivo a nivel mundial, está producida por un conjunto de begomovirus transmitidos de forma persistente por *Bemisia tabaci* (Gennadius). En los últimos años se han desarrollado nuevas estrategias de control, ya que el uso de insecticidas es poco eficaz frente a la transmisión de virus y *B. tabaci* desarrolla rápidamente resistencia a muchos compuestos. Dentro de los métodos culturales de control disponibles, se encuentran las barreras ópticas fotoselectivas, cuyo material filtra el espectro luminoso en el rango ultravioleta, alterando la percepción visual de muchos insectos plaga, reduciendo la colonización de plagas en cultivos protegidos y la dispersión de virus. Con el propósito de describir el efecto de barreras fotoselectivas en la dispersión secundaria del virus TYLCV en cultivo de tomate, se llevó a cabo un ensayo en invernaderos tipo túnel en la finca experimental «La Poveda-CSIC», Arganda del Rey, Madrid. Se empleó la malla fotoselectiva BioNet[®] para cubrir cada invernadero dividido en dos compartimentos estancos, utilizando invernaderos cubiertos con una malla standard de las mismas características (10x20 hilos/cm) como control. En cada compartimento se transplantaron 38 plantas, cuatro de las cuales fueron previamente infectadas por TYLCV-IL e infestadas con ~ 100 huevos de *B. tabaci* con el fin de generar fuentes de inóculo en los laterales de cada módulo. Se anotó la presencia de síntomas característicos del virus, así como su detección en todas las plantas mediante hibridación de ácidos nucleicos usando sondas marcadas con digoxigenina. Al término del cultivo, se observó un número similar de plantas con síntomas típicos de TYLCV bajo ambos tipos de cubiertas (BioNet[®]: 68±5%Control: 73±4%). La mayor sensibilidad de la detección molecular elevó el porcentaje de infección a prácticamente la totalidad del cultivo bajo los dos tipos de cubiertas ensayadas. Por otro lado, la densidad poblacional de ninfas de *B. tabaci* fue mayor en los invernaderos cubiertos por BioNet[®], aunque el porcentaje de plantas de tomate ocupadas por adultos fue similar. En conjunto, estos resultados indican que las mallas fotoselectivas no consiguen frenar la dispersión secundaria de TYLCV cuando existen fuentes de inóculo cargadas con una elevada densidad de huevos de *B. tabaci*.

PAN-256

**INFLUENCIA DEL PORTAINJERTOS EN EL RENDIMIENTO
Y CALIDAD DE MOSTOS DE *Vitis vinifera* cv MENCIA
INFECTADA CON GLRaV-3**

Pesqueira, A.M.¹, González- Rodríguez, R.², Cabaleiro, C.¹

¹ Escola Politécnica Superior, USC, Campus Universitario s/n. E-mail: *crisrina.cabaleiro@usc.es*

² Sanidade Vexetal, Consellería do Medio Rural, Xunta de Galicia

El enrollado de la vid induce daños muy variables en función de diversos factores como son el virus presente, las variedades o las condiciones ambientales de cada año. Los virus implicados en esta enfermedad (*Grapevine leafroll associated viruses*) son virus del floema y podrían afectar a la compatibilidad y/o al comportamiento productivo de las plantas injertadas. La diversidad de cultivares y portainjertos empleados en las distintas zonas vitícolas mundiales obliga a estudiar múltiples combinaciones. Ya hay alguna clasificación preliminar de sensibilidad a GLRaV-3 en función del portainjertos (Golino et al., 2009); los citados como más sensibles (5BB, 5C, 1103P and 3309C) son poco comunes en la viticultura gallega, salvo el 1103P muy utilizado desde 1990 en la DO Ribeira Sacra. Uno de los moderadamente sensibles (110R) es muy frecuente en toda España y los propuestos como más resistentes apenas se utilizan, salvo *Vitis rupestris*, que es un portainjertos antiguo poco habitual en replantaciones.

Mientras se obtienen resultados de combinaciones específicas de portainjertos, cultivares y virus del enrollado, se ha planteado la toma de datos sobre cepas del cultivar Mencía de parcelas en plena producción, con GLRaV-3 y portainjertos conocido (viñedos < 15 años) que se localizaron en un muestreo realizado en 2008 en la DOC Valdeorras (Ourense). En 2009 se tomaron datos de síntomas en varias parcelas y se midió vigor, producción y calidad de mostos en 3 viñedos con Mencía sobre 110R para compararlos con los datos de 2 viñedos de Mencía sobre 1103P. Los primeros resultados apuntan a daños significativamente mayores y síntomas mucho más claros en Mencía sobre 110R que en Mencía sobre 1103P, supuestamente más sensible. Las principales diferencias observadas son descensos medios de producción y vigor del 30-50% en 110R y no significativos en 1103P; los retrasos en la maduración de la uva con bajadas claras de contenido en sólidos solubles también fueron mayores y más consistentes en Mencía sobre 110R. Las diferencias en daños se corresponden con mayor y más temprana expresión de síntomas de enrollado.

PAN-257

ESTUDIO *in vivo* DE LOS MECANISMOS DE SUPRESIÓN DE LA INFECTIVIDAD DE UN VIRUS DE PLANTAS DEBIDO A MUTAGÉNESIS INCREMENTADA

Domínguez-Huerta, G.¹, Navas-Castillo, J.², Grande-Pérez, A.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Universidad de Málaga, Campus Teatinos, 29071 Málaga. E-mail: agrande@uma.es

² IHSM-UMA-CSIC, Estación Experimental «La Mayora», 29750 Algarrobo-Costa (Málaga)

La alta tasa de mutación de los virus, debido a la falta de actividad correctora de sus replicasas, determinan, conjuntamente con su alta fecundidad, grandes tamaños poblacionales y pequeños genomas, que las poblaciones virales presenten una estructura genética en cuasiespecie. La rápida adaptabilidad de los virus a distintos ambientes conduce a la aparición de variantes genéticas virales resistentes a un tratamiento antiviral con fármacos o anticuerpos o a la capacidad de superar la resistencia genética en un huésped vegetal. Por tanto, es evidente la necesidad de investigar nuevas estrategias antivirales que tengan en cuenta la dinámica evolutiva de las cuasiespecies. Una de estas nuevas estrategias es la mutagénesis letal o catástrofe de error que consiste en la eliminación de la infección viral por exceso de mutaciones. Resultados experimentales han corroborado la eliminación de la infectividad de varios virus de RNA en cultivos celulares, cuya tasa de error ha sido incrementada artificialmente mediante la aplicación de análogos de base o de nucleósido mutagénicos. Dado que los estudios *in vivo* que estudien las bases moleculares de este fenómeno son muy escasas, nosotros lo estamos abordando en el sistema experimental del begomovirus (familia *Geminiviridae*) *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV), un virus emergente de DNA de cadena sencilla, en tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Moneymaker). Mediante la administración de análogos mutagénicos de base (5-Fluorouracilo) o de nucleósido (5-Azacidina), hemos comprobado que hay una reducción dependiente de dosis de la aparición de plantas que muestran síntomas de infección sistémica, así como una drástica disminución de los niveles de moléculas genómicas virales. Estos resultados, junto a la escasa toxicidad de estos análogos mutagénicos mostrada por el huésped, abren el camino a un modelo *in vivo* para estudiar la dinámica de extinción de virus por mutagénesis letal en plantas, así como a potenciales estrategias de control basadas en quimioterapia.

PAN-258

**EFFECTO DEL USO DE LA RESISTENCIA A *Bemisia tabaci*
EN LA DISPERSIÓN DEL CRINIVIRUS *Tomato chlorosis virus* (TOCV)
EN TOMATE**

Martín-Rodríguez, P., Navas-Castillo, J., Fernández-Muñoz, R., Moriones, E.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Estación Experimental «La Mayora», 29750 Algarrobo-Costa, Málaga. E-mail: moriones@eelm.csic.es

Para el desarrollo de enfermedades virales en plantas es necesaria una interacción compatible entre la planta, el virus y el insecto vector que transmite el virus. La producción intensiva de tomate en España, se ve afectada en gran medida por las enfermedades virales, tales como la enfermedad del rizado amarillo del tomate (*Tomato yellow leaf curl disease*, TYLCD) causada por diferentes especies de begomovirus (entre otros, *Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), o el amarilleo del tomate causada entre otros *crinivirus* por *tomato chlorosis virus* (ToCV). Estas dos enfermedades virales se transmiten por la mosca blanca *Bemisia tabaci* de manera persistente y semipersistente, respectivamente. El control convencional basado en aplicaciones de insecticidas para el control del vector resulta poco efectivo para el control de estos virus, siendo la mejor alternativa el uso de resistencia genética en el huésped. Así como para los virus asociados a TYLCD se dispone de cultivares comerciales que incorporan resistencia, hasta el momento no se dispone de resistencia comercial para el control de ToCV. Recientemente hemos demostrado que la utilización de líneas de tomate que incorporan resistencia a *B. tabaci* puede ayudar a limitar la dispersión de TYLCV gracias a la antixenosis resultante de la presencia de tricomas glandulares tipo IV y la secreción de acilsacarosas. Sin embargo, se desconoce si esta resistencia puede ser efectiva para un virus de transmisión semipersistente como ToCV. En este trabajo se investiga este aspecto. Para ello hemos llevado a cabo ensayos de simulación de procesos de dispersión primaria y secundaria de ToCV utilizando las líneas cuasisogénicas, con y sin tricomas glandulares y secreción de acilsacarosas, ABL-14-8 y Moneymaker, respectivamente. Los datos preliminares indican que, al contrario de lo observado con TYLCV, la presencia de resistencia al insecto podría favorecer la dispersión de ToCV.

PAN-259

DETERMINACIÓN DE PÉRDIDAS EN RENDIMIENTO Y RESPUESTA DE VARIEDADES COMERCIALES DE FRIJOL AL AMACHAMIENTO (*Aphelenchoides besseyii*)

Araya, C. M.¹, Chaves, N.²

¹ Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. Ap. Postal 86-3000 Heredia, Costa Rica. E-mail: caraya@una.ac.cr

² Estación Experimental Fabio Baudrit, Universidad de Costa Rica. Ap. Postal 183-4050 Alajuela, Costa Rica. E-mail: nfchaves@gmail.com

El amachamiento del frijol (*Aphelenchoides besseyii*) emergió en Costa Rica en la década de los 90 afectando campos comerciales; en ensayos preliminares se ha determinando que la enfermedad causa pérdidas de hasta 70% en rendimiento. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar las pérdidas en rendimiento y evaluar al reacción de variedades comerciales de frijol, para definir la estrategia de combate por resistencia. Las pérdidas en rendimiento se cuantificaron en seis comunidades de la región agrícola Brunca (sur del país) y Huetar Norte, mientras que la reacción de variedades comerciales a la enfermedad se realizó solo en la región Brunca. El rendimiento se evaluó en 97 microparcels de 3 m de largo, establecidas en lotes reproductores de semilla de la variedad Cabecar; la incidencia de amachamiento se evaluó durante las etapas de floración y llenado de vainas. Se cuantificaron los principales componentes de rendimiento para cada microparcels, y mediante el análisis de regresión y correlación se estimaron las pérdidas causadas por la enfermedad. Para determinar la reacción de variedades comerciales, se procedió a inocular 10 plantas de cada variedad: Bribri, Chánguena, Cabécar, Guaymí y Brunca; los resultados se compararon con el control. La enfermedad causó una evidente reducción del número de vainas (71-80%) lo que inició en la disminución de rendimiento (69-85%); a la vez se encontró un menor número de semillas por vaina (0-16%) y en el peso de 100 semillas (0-19%), pero sin significancia estadística. Ninguna de las variedades comerciales de frijol evaluadas presentó algún grado de resistencia al amachamiento. Este resultado sugiere la necesidad de intensificar la búsqueda de genes de resistencia en especies cultivadas o silvestres *Phaseolus* y en acervos genéticos secundarios.

PAN-260

**IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL
DEL AMACHAMIENTO DEL FRIJOL EN COSTA RICA**

Chaves, N.¹, Araya, C. M.², Cervantes, E.³

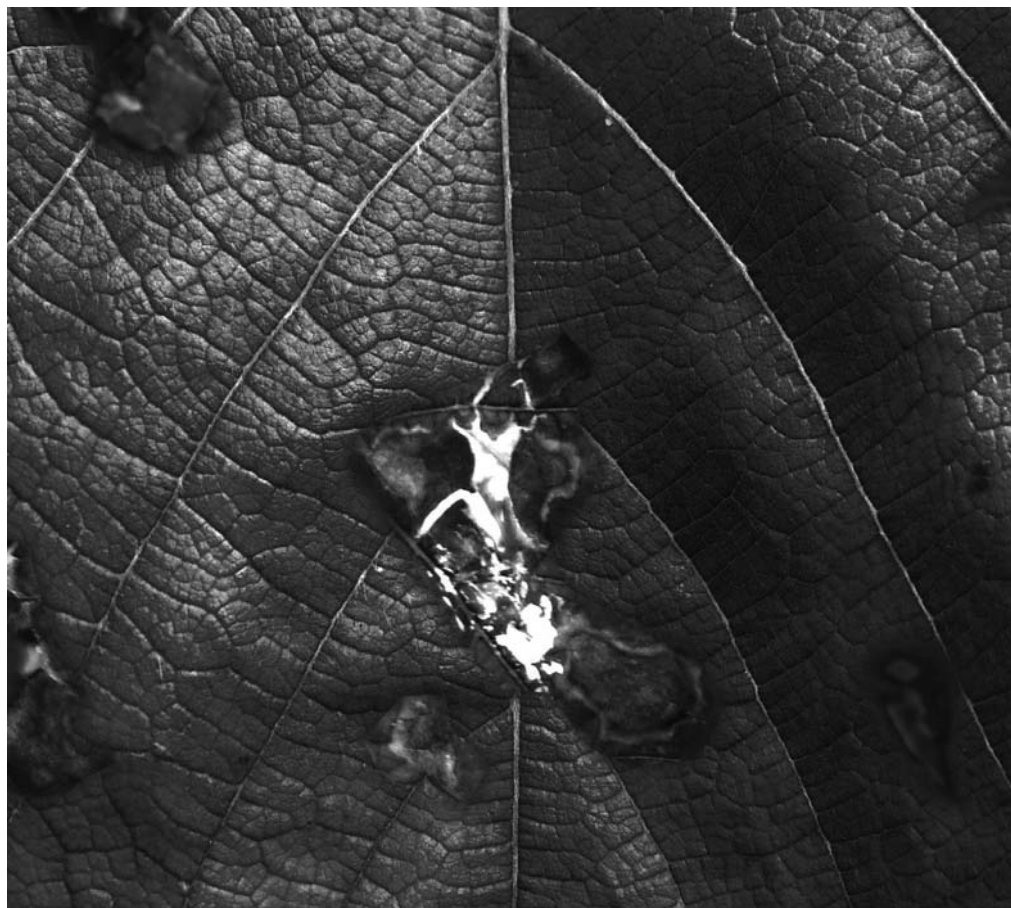
¹ Estación Experimental Fabio Baudrit, Universidad de Costa Rica. Alajuela, Costa Rica. Ap. Postal 183-4050, Alajuela. E-mail: nfchaves@gmail.com

² Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. Ap. Postal 86-3000 Heredia. E-mail: caraya@una.ac.cr

³ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología, Consejo Superior de Investigaciones Científicas en Salamanca. Apartado 257 Salamanca, España. E-mail: emilio.cervantes@irnasa.csic.es

El amachamiento de frijol es una enfermedad que emergió a finales de la década de los 90 en Costa Rica, que causa pérdidas de 69 a 85 % en rendimiento, y que fue inicialmente identificada como de origen viral o causada por un fitoplasma. Sin embargo, el comportamiento epidemiológico de la enfermedad no correspondía a esos tipos de patógeno. El objetivo del presente trabajo fue identificar el agente causal de esta enfermedad. Para ello, se recolectaron muestras en campos comerciales de plantas con síntomas, a las que se les aplicó: a) análisis de ARN bicatenario; b) DAS-ELISA; c) cumplimiento de los postulados de Koch; y d) prueba de patogenicidad. Los trabajos se realizaron en el Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas en Salamanca, España, y el Centro de Investigaciones en Biología Molecular y Celular y la Estación Experimental Fabio Baudrit de la Universidad de Costa Rica. El análisis de la presencia de ARN de doble banda permitió comprobar que, aunque se obtiene una banda de aproximadamente 3200 pb coincidente en tamaño con el Virus del moteado clorótico del caupí (CCMV), ésta se presentó en solo 53% de las muestras analizadas. En el análisis de DAS-ELISA se pudo confirmar que el CCMV no se presentó en ninguna de las muestras de plantas analizadas. Los postulados de Koch y la prueba de patogenicidad permitieron identificar y confirmar que el verdadero agente causal del amachamiento es el nematodo *Aphelenchoides besseyii* –no el CCMV o un fitoplasma del grupo 16SrI-B, como se propuso en estudios previos sobre la etiología de la enfermedad–.

**ÍNDICE ALFABÉTICO
DE AUTORES/AS**



ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/IAS

- Abad, Z.G., 320
 Abad-Campos, P., 77, 134, 173, 318, 319
 Abarca-Grau, A.M., 365, 367
 Abd-Elgawad, M. M. M., 209
 Abelleira, A., 342, 426
 Acosta Pérez, A.J., 395
 Adem, M., 390
 Aguado, A., 229
 Aguado-Ortega, A., 382
 Agüero, J., 246
 Águila-Clares, B., 259
 Aguilar M.I., 320
 Aguilar, J., 346
 Aguilar, M., 240
 Aguín, O., 80, 203, 336, 337, 338, 339, 342, 422
 Agulló D., 308
 Agustí-Brisach, C., 263, 382
 Aira, M.J., 272
 Alaniz, S., 77, 173, 318
 Alarcón, B., 197, 199
 Alba, L., 248
 Aletà, N., 68
 Alfaro, A.O., 308
 Alfaro-Fernández, A., 289, 290, 291, 292, 301, 306, 307, 348, 349
 Alonso, A., 187
 Alonso-Blanco, C., 220
 Altier, N., 116
 Álvarez, B., 255
 Álvarez, I.A., 77
 Álvarez, N., 268
 Alvarez, S., 157
 Álvarez-Tejado, M., 61
 Alves-Santos, F. M., 372, 388
 Ambrós, S., 221, 222, 358
 Andrés M.F., 204
 Andrés, J.L., 171
 Antúñez-Lamas, M., 131, 238
 Aparicio, F., 135, 234
 Aragón, I.M., 168, 238
 Aramburu, J., 211, 212
 Aranda, M.A., 148, 149, 218, 219, 294, 295
 Aranda, S., 226, 231, 370
 Araya, C.M., 436,437
 Ares, A., 265
 Arilla, A., 309
 Ariño J., 349
 Armengol, J., 71, 172, 173, 227, 263, 316, 317, 318, 326, 380, 381, 382
 Arrebola, D., 310
 Arrebola, E., 92, 166
 Ascasíbar, J., 171, 265
 Avilés, M., 243, 397, 398, 399, 400, 401
 Ayala, J., 158
 Ayllón, M.A., 288
 Azpilicueta A., 324
 Badosa, E, 363, 364, 366, 425
 Baixauli, C., 240, 330
 Balmelli, G., 116
 Bandarra, V., 398
 Barandalla, L., 206
 Bárbara, I., 99
 Barbé, S., 96
 Barceló Muñoz, M., 192
 Barceló, A., 332
 Bardají, E., 363, 366, 425
 Bardaji, L., 91, 167, 237
 Baroja, E., 407
 Barranco, D., 178, 179
 Barrios, G., 286
 Barriuso Vargas, J., 103, 104
 Barroso-Albarracín, J.B., 100
 Basallote-Ureba, M.J., 78, 194, 383
 Bassimba, D.D.M., 330
 Batlle, A., 170, 260, 315
 Beale, M. H., 132
 Bech, J., 170, 315
 Bejarano Alcázar, J., 264, 283, 284
 Bejarano, E.R., 152
 Bejarano, I., 399
 Belda, J.E., 396
 Beltrán, C., 415
 Beltrán, R., 318
 Belliure, B., 212
 Bello, A., 208
 Bellón, D., 387
 Ben Salem, I., 318
 Berbegal, M., 71, 77, 227, 380, 381, 382
 Bergua, M., 125
 Berni, J.A.J., 107
 Berra, D., 282
 Berruete, I., 67
 Bertolini, E., 83, 123, 259, 309, 343, 344, 429, 430, 431
 Betancourt, M., 288

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS

- Beuzón, C.R., 165
 Bills, G.F., 202
 Biosca, E.G., 88, 110, 255, 256, 258
 Birem, F., 177
 Blanco, J., 388
 Blanco-López, M., A., 177
 Blanch, M., 186, 200
 Bonani, J. P., 144
 Bonaterra A., 361
 Boned, J., 377
 Bonilla, N., 141, 408
 Borrego-Benjumea, A., 383
 Borrero, C., 397, 398, 399, 400, 401
 Botella, L., 174
 Botella, M., 345, 346
 Boto, J.A., 379
 Boughalleb, N., 318
 Bouzid, S., 214
 Bové, J., 309
 Bretó, M.P., 240
 Burgos, L., 218
 Buron-Moles, G., 201
 Cabaleiro, C., 157, 433
 Caballero, A., 229
 Caballero, J. M., 177
 Caballero, J.L., 192
 Cabrefiga, J., 361, 362, 364, 368
 Calderon, C.E., 408
 Calvet, C., 139, 418
 Callier, P., 269, 270, 322, 373
 Cambra, M., 72, 83, 309, 343, 429, 430
 Cambra, M. A., 67, 305
 Caminero, C., 302, 303
 Campelo, M. P., 181, 293, 350
 Campo, S., 366
 Camprubi, A., 139, 418
 Candela, M.^ªE., 245
 Candresse, T., 53
 Cano, A., 208
 Cano, E., 351
 Cantalapiedra-Navarrete, C., 340, 341
 Cañizares, J., 148
 Capote, N., 229
 Carazo, G., 297, 313
 Carazo, N., 335
 Carballeira, R., 160, 171, 265, 376
 Carreres, R., 240
 Carrillo-Medrano, S.H., 403
 Carrión, V., 92, 166
 Casado, R. A., 181
 Casals, C., 140, 374
 Casanova, E., 399, 400
 Casquero, P. A., 181
 Castañeda-Ojeda, M.P., 167, 238
 Castaño, R., 243, 397, 398, 401
 Castillo, M.L., 400
 Castillo, P., 87, 108, 226, 296, 326, 340, 341, 406
 Castillo, S., 398, 399, 400
 Castro, S., 313
 Catala, M.M., 240
 Català-Senent, J., 258
 Cazorla, F.M., 92, 141, 166, 239, 310, 323, 408
 Cebrián, M.C., 289, 290, 291, 292, 301, 306, 307, 308, 348, 349
 Cenis, J.L., 208
 Cervantes, E., 437
 Chaves, N., 436, 437
 Chiibi, S., 214
 Closa, S., 332
 Coca, M., 366
 Codina, C., 159
 Codina, J.C., 310
 Coll, N., 211
 Collado, J., 367
 Collados, R., 67
 Córdoba-Sellés, M.C., 289, 290, 291, 292, 301, 306, 307, 308, 348, 349
 Corpas, J.L., 102
 Corrales, A.R., 72, 343, 429
 Cortada, L., 119, 205, 232
 Couceiro, C., 157
 Crespo-Gómez J.I., 239
 Crespo-Palomo, M., 323
 Cretazzo, E., 347
 Cuartas Lanza, R., 93, 131
 Cubera, E., 203
 Cubero, J., 67, 94, 257, 369
 Cuesta, M.J., 328
 de Armas, R., 186, 199, 200
 De Beer, Z.W., 325
 De Cal, A., 112, 126, 189, 275, 280, 281, 405, 409, 410, 420
 De León Guerra, L., 271, 395
 de los Santos, B., 102, 229, 385, 386

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS

- De Luca, V., 316
 de Paz, I., 346
 De Ramón, M., 142, 185
 De Vallejo, M., 388
 de Vega-Bartol, J.J., 128, 228
 de Vicente, A., 92, 141, 156, 159, 166, 239,
 310, 323, 408, 417, 428
 De Vita, P., 269, 270, 322, 373, 393
 Debreczeni, D. E., 212
 Del Cueto-Ginzo, A., 225, 297
 Del Río, C., 177
 del Río, I., 93
 Descals, E., 332
 Díaz, E.M., 198, 199
 Díaz, J., 99, 160, 171, 265, 376
 Díaz-Mínguez, J.M., 128, 195, 228
 Díez, J., 135
 Díez, J.J., 116, 174, 175, 190, 372, 388
 Díez-Navajas, A.M., 124, 371
 Dionisio, L., 398
 Dolja V. V., 147
 Domingo, C., 240
 Domínguez Correa, P., 176, 271, 395
 Domínguez-Huerta, G., 434
 Donaire, L., 148, 233
 Dorta, E., 389
 Durán, F.J., 231
 Duran-Vila, N., 150
 Egea-Gilabert, C., 245
 Egüen, B., 405
 Eguzkitza, A., 411
 El Bakali, M.A., 335
 Elmer, P.A.G., 374
 Elvira-Recuenco, M., 210, 223
 Emiliozzi, M., 204
 Escofet, P., 80
 Escriu, F., 125
 Español, M. L., 67
 Espinel Marzo, S., 356
 Espino, A.I., 345, 346
 Estaún, V., 139, 418
 Eziyyani, M., 245
 Fagoaga, C., 136, 214, 215, 216
 Feliu, L., 363, 366, 425
 Fereres, A., 127, 144, 432
 Fernández de Gamarra, M.E., 411
 Fernández Peña M., 427
 Fernández, A. M., 253, 254, 311, 312, 314
 Fernández, C., 143, 416
 Fernández, F., 270
 Fernandez, G., 127
 Fernández-Galván, D., 310
 Fernández-González, M., 272
 Fernández-Muñoz, R., 144, 435
 Fernández-Ortuño, D., 55, 69, 261
 Fernández-Rebollo, P., 242, 270, 373, 393
 Ferragud, E., 94, 369
 Ferrándiz, J. C., 301, 306
 Ferré, R., 425
 Ferriol, I., 249, 358
 Flores, R., 216
 Font, M.I., 289, 291, 292, 301, 306, 307, 308,
 348, 349
 Fontanet, P., 366
 Fontaniella, B, 184
 Fortes, I. M., 76
 Fraaije, B.A., 55, 69, 261
 Fraile, A., 109, 220, 287, 288, 432
 Francés, J., 361, 425
 Freitas, A., 157
 Frías, J., 229
 Gago, S., 247
 Gaju, N., 141, 421
 Galeano, M., 396
 Galipienso, L., 211, 212
 Gallo Llobet, L., 176, 271, 395
 Gallo, S., 407
 Gandía, M., 182, 183
 Garbisu, C., 375
 García de la Coba, M., 217
 García de Rosa, B., 347
 García L.V., 269
 García, A., 191
 García, C.A., 302, 303
 García, E., 187
 García, J., 123, 431
 García, J.A., 72
 García, L., 157
 García-Arenal, F., 109, 220, 287, 288, 432
 García-Benavides, P., 304
 García-Breijo, F., 134
 García-Figueres, F., 139, 286, 335, 418
 García-Gutiérrez, L., 159, 428
 García-Jiménez, J., 71, 77, 172, 173, 227,
 263, 318, 319, 326, 380, 381, 382
 García-Luque, I., 120, 217, 224

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS

- García-Mariscal, K., 403
 García-Sánchez, M.A., 128, 228
 García-Villaraco, A., 424
 Garzo, E., 144
 Gea, F.J., 311, 314, 333, 334
 Gell, I., 275, 369
 Genovés, A., 351
 Gil, P., 350
 Gilligan, C. A., 54
 Giménez, J., 123, 431
 Gisbert, C., 188
 Goldarazena, A., 325, 411
 Golmohammadi, M., 257
 Gómez, G., 233
 Gómez, J., 320
 Gómez, P., 219, 295
 Gómez-Bernardo, E.M., 350
 Gómez-Lama, C., 133, 195, 196
 González Carcedo S., 427
 González- Rodríguez, R., 433
 González, A., 345, 346
 González, A. J., 181, 253, 254, 285, 293, 311, 312, 314
 González, J., 141
 González, V., 230, 327, 378, 394
 González-Candelas, L., 142, 185, 201
 González-Domínguez, E., 78, 194
 Gonzalez-Ibeas, D., 148
 González-Jara, P., 287, 288
 González-Melendi, P., 131
 González-Penalta, B., 338
 Gonzalez-Ramiro, L., 245
 González-Varela, G., 285
 Gorris, M.T., 72, 429
 Gosálvez, B., 218
 Gramaje, D., 172, 263, 317, 326
 Grande-Pérez, A., 434
 Grigoros, I., 225
 Gronenborn, B., 225
 Gubler, W. D., 329
 Güell, I., 366
 Guerrero, C., 398
 Guerrero, M.M., 268, 291, 404, 415
 Guerri, J., 246, 247, 248
 Guevara-Morato, M.A., 217
 Guirado, E., 323
 Gullino, M.L., 196
 Gutiérrez-Barranquero, J.A., 310, 323
 Gutiérrez-Gutiérrez, C., 108, 340, 341
 Gutiérrez-Mañero, F. J., 424
 Guzmán-González, S., 244
 Haque, M. M., 175
 Harries, E., 182, 183
 Hermoso de Mendoza, A, 301, 306
 Hermoso, J.M., 141, 323
 Hernández, J.M., 117, 389
 Hernández-Castillo, F. D., 412, 413
 Herradón, E., 193, 210, 223
 Herranz, M.C., 135
 Herranz, Y., 155
 Herrera-Vásquez, J.A., 290, 291, 292
 Heungens, K., 134
 Hita, I., 347
 Hogenhout, S. A., 59
 Horchani, H., 391
 Huerga, V., 124
 Iglesias-Sauce. S., 382
 Isasmendi, A., 277
 Iturrítza, E., 277, 278, 279, 419
 Iturrondobeitia, J.C., 411
 Jacobs, J. L., 169
 Jato, V., 272
 Jiménez-Díaz, R.M., 86, 115, 226, 355, 370, 377
 Jiménez-Fernández, D., 115
 Jiménez-Gasco, M.M., 70
 Jordá, C., 289, 290, 291, 292, 301, 306, 307, 308
 Jordán-Ramírez, R., 355, 414
 Jousseume, C., 387
 Juárez, J., 431
 Juárez, M., 289, 291, 294, 295, 308
 Juaristi, B., 375
 Jurado, J., 267
 Kassem, M., 294, 295
 Kingdom, H. N., 59
 Lacasa, A., 207, 208, 268, 291, 392, 404, 415
 Lacasa, C.M., 207, 404, 415
 Lainez, M.C., 333, 334
 Lamarca, N., 112, 140
 Landa, B.B., 70, 84, 107, 108, 115, 141, 226, 231, 340, 341, 370, 377
 Landeras, E, 134
 Lara, J.M., 143, 416
 Larena, I., 126, 155, 275, 280, 420, 421
 Larregla, S., 375, 404

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS

- Larrigaudière, C., 118
 Laviña, A., 170, 260, 315
 Layosa, J. A., 79
 Legarrea, S., 432
 Legaz, M.E., 184, 186, 197, 198, 199, 200
 Legorburu, F.J., 101, 344
 León, M., 77, 263, 316, 319
 Lerma, M. L., 87, 296, 326, 406
 Liñán, M., 210
 Lobo, G.M., 389
 Lombardero, M.J., 273, 274
 Lopes, S., 83
 López Reina M.C., 324
 López Robles D.J., 427
 López, C., 211, 212, 216
 López, D., 335
 López, J., 429
 López, M., 142, 144, 177, 185
 López, M.M., 67, 83, 96, 110, 255, 256, 257, 259, 305, 309, 365, 367
 López, N., 347
 López, R., 206
 López-Braña, I., 204
 López-Escudero, F.J., 177, 178, 179, 390
 López-Fabuel, I., 72, 344
 López-Herrera, C. J., 192, 412, 413, 414
 López-Pérez, M., 201
 López-Robles, D. J., 424
 López-Solanilla, E., 60, 93, 95, 131, 238
 Lorenzana, A., 181, 350
 Lorenzana, S., 350
 Lozano, M.D., 241
 Lozano-Durán, R., 152
 Loza-Reyes, E., 69
 Lucas, J.A., 55
 Lucena, C., 266
 Luis-Arteaga, M., 125
 Luna, D., 391
 Lunello, P., 87
 Luque, J., 101, 262, 286
 Llave, C., 148, 233
 Llop, P., 96, 257
 Llorente, I., 75, 321
 Macho, A.P., 165
 Makowski, D., 111
 Maldonado-González, M.M., 100, 402
 Mallorquí, M., 421
 Mansilla, J., 296
 Mansilla, J.P., 80, 203, 336, 337, 338, 339, 342, 422, 423, 426
 Manzano, P., 205
 Manzo-Sánchez, G., 244, 403
 Marcelo, V., 379
 Marco-Noales, E., 88, 110, 256, 258, 259, 365, 367
 Marcos J.F., 182, 183
 Marcos, M.F., 350
 Marqués, L., 240
 Marroni, V., 116
 Martí M., 349
 Martín, C., 350
 Martín, L., 328
 Martín, M.T., 328
 Martín-Domínguez, R., 228
 Martínez, A., 123, 431
 Martínez, C., 211
 Martínez, F., 126
 Martínez, G., 233
 Martínez, M., 141
 Martínez, M.A., 268, 404, 415
 Martínez, M.C., 207, 208, 268, 343
 Martínez, O., 316
 Martínez, V., 207, 404, 415
 Martínez-Alonso, M., 421
 Martínez-Álvarez, P., 372, 388
 Martínez-Bilbao, A., 237
 Martínez-Carrasco, A., 333
 Martínez-Treceño, A., 409
 Martín-Rodríguez, N., 128, 356
 Martín-Rodríguez, P., 435
 Martín-Sanz, A., 302, 303
 Matas, I.M., 95, 168, 238
 Matías, J., 68
 McGrath, M., 169
 Melero-Vara, J.M., 383, 384
 Melgarejo, P., 112, 126, 155, 189, 275, 280, 281, 405, 409, 410, 420, 421
 Melillo, M.T., 204
 Mercado, J.A., 192
 Mercado-Blanco, J., 100, 402
 Mesanza, N., 277, 278, 419
 Messeguer J., 363
 Mohammad, F., 177
 Molinero-Ruiz, M.L., 78, 194
 Monge, P., 184
 Montenegro, D., 336, 422

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS

- Montero, M., 363
 Montes, N., 220
 Montes-Borrego, M., 107, 115, 226, 231, 370
 Montesinos, E., 68, 75, 231, 321, 361, 362, 363, 364, 366, 368, 425
 Montesinos, L., 366
 Monton, C., 335
 Mora Sala, B., 319
 Mora, I., 231, 362, 368
 Mora, M.A., 432
 Moragrega, C., 68, 75, 321
 Moral, J., 79, 85, 180, 267
 Moralejo, E., 331, 332
 Morales-Rodríguez, M.C., 392
 Moraño Moreno, R., 283, 284
 Moreno, A., 127, 343, 429
 Moreno, J., 171
 Moreno, M.G., 109
 Moreno, P., 136, 151, 216, 221, 222, 246, 247, 248
 Morente C., 305
 Moriones, E., 76, 144, 435
 Mostert, L., 317
 Moyano, C., 193, 210
 Müller, M., 190
 Muñoz, R. M., 87, 296, 326, 406
 Muñoz-Díez, C., 179
 Murcia, N., 150
 Muriel, J.L., 229
 Murillo, J., 91, 92, 95, 166, 167, 191, 237, 238
 Muruamendiaraz, A., 101, 262
 Nadal, A., 363
 Nava, R. A., 384
 Navarro, E., 297
 Navarro, I., 96
 Navarro, J. A., 213
 Navarro, L., 136, 151, 216, 246, 247, 248, 431
 Navarro, M.J., 311, 314, 333, 334
 Navarro-López, J., 222
 Navas-Castillo, J., 76, 108, 147, 434, 435
 Navas-Cortés, J.A., 70, 84, 107, 108, 115, 226, 266, 355, 377
 Nemsá, I., 268
 Nicholls, V. M., 59
 Nieto, A., 331
 Nieto, C., 149
 Nogales, A., 139, 418
 Nuez, F., 188
 Núñez-Vázquez, L., 332
 Núñez-Zofío, M., 375, 404
 Olalla, C., 424, 427
 Olmo, D., 331
 Olmos, A., 72, 123, 344, 430, 431
 Omaña, J.M., 158
 Ordax, M., 88, 110, 256
 Ordovás, J., 400
 Orílio, A. F., 147
 Ornat, C., 119, 143, 205, 209, 232, 335
 Orozco-Santos, M., 244, 403
 Ortega, I., 350
 Ortega, J., 102, 385, 386
 Ortiz V., 276
 Ortiz-Barredo, A., 158, 356, 371
 Ortiz-Urquiza, A., 241
 Osca, J.M., 240
 Osorio-Hernández, E., 412, 413
 Padilla, C.V., 347
 Padilla, V., 347
 Pagán, I., 109, 220, 288
 Palacio-Bielsa, A., 67, 305
 Palo Núñez, E.J., 392
 Palo Osorio, C., 392
 Palomares-Rius, J.E., 226, 340, 341
 Palomo, J.L., 302, 303, 304
 Pallás, V., 135, 213, 233, 234, 351
 Pardo, C., 99
 Pastor, J., 119
 Paz, L.M., 210
 Peduto, F., 329
 Peiró, A., 351
 Pensabene-Bellavia, G., 136
 Peña, L., 136, 151, 214, 215, 216
 Peñalver, J., 67
 Peñalver, R., 365, 367
 Peremyslov, V. V., 147
 Pérez- Otero, R., 338
 Pérez, E., 375
 Pérez, J.J., 72
 Pérez, M., 79
 Pérez, R., 80
 Pérez, V., 357
 Pérez-Artés, E., 133, 195, 196
 Pérez-García, A., 92, 156, 159, 387, 417, 428

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/AS

- Pérez-Sierra, A., 71, 77, 134, 175, 316, 318, 319, 380, 382
 Pesqueira, A.M., 157, 433
 Picoaga, A., 342, 426
 Picón-Toro, J., 392
 Pina, J.A., 248, 343
 Pintos, C., 337, 338, 339, 423
 Piñero, D., 287, 288
 Piquer-Salcedo, J.E., 110, 256
 Pla, E., 240
 Pla, M., 363
 Planas, M., 363, 366, 425
 Platas, G., 187
 Plaza, M., 432
 Pliego-Alfaro, F., 192
 Pliego, C., 239, 408
 Pomar, F., 265
 Porras, I., 268
 Pozo, B., 302, 303
 Preston, G. M., 132
 Prieto, P., 100
 Puig, M., 75, 321
 Quintana, E., 278, 279, 419
 Quintana, J., 198
 Quintano, B., 304
 Rallo, L., 178, 179
 Ramo, C., 322
 Ramón-Albalat, A., 380
 Ramos, B., 128, 228
 Ramos, C., 95, 167, 168, 238, 239, 364
 Rangel, E., 249
 Raya, M.C., 324
 Redondo, C., 94, 369, 409
 Redondo, V., 337, 338, 339
 Reguera, J.I., 424, 427
 Reig, J., 134
 Reinoso, B., 181, 293, 379
 Reis, M., 398
 Remesal, E., 70, 355
 Renovell, A., 247
 Requena, A.M^a., 245
 Requena, M^a.E., 245
 Reyes J.A., 301
 Reyes, J., 286
 Rhouma, A., 79
 Rial, C., 337, 338, 339, 423
 Rico, A., 132
 Rincón, R., 350
 Ritter, E., 206
 Rivera, A., 171, 265
 Robertson, L., 208
 Robles-González, M., 403
 Roca, L.F., 241, 390, 391
 Rodelo-Urrego, M., 287, 288
 Rodicio, M.R., 253, 254
 Rodríguez Jurado, D., 264, 283, 284
 Rodríguez Moreno, L., 149
 Rodríguez Pérez, A., 176, 271, 395
 Rodríguez, M.J., 302, 303
 Rodríguez-Hernández A.M., 218
 Rodríguez-Herva, J. J., 131
 Rodríguez-Molina, M.C., 392
 Rodríguez-Palenzuela, P., 60, 93, 95, 131, 238
 Rodríguez-Rajo, F.J., 272
 Rodríguez-Reina, J. M., 381
 Rogers, S.L., 69
 Rojo, J., 397
 Romero J., 215
 Romero, D., 428
 Romero, F., 102, 229, 385, 386
 Romero, J., 225, 297, 313
 Romón, P., 325, 411
 Ros, C., 207, 208, 404, 415
 Rosas-Díaz, T., 152
 Roselló, G., 361
 Roselló, M., 305
 Rovira, M., 68
 Ruano-Rosa, D., 192, 412, 413, 414
 Rúas, C., 345, 346
 Rubio, L., 123, 212, 249, 344, 358
 Rubio, S., 407
 Rubio-Pérez, E., 78
 Rufián, J.S., 165
 Ruiz de Galarreta, J.I., 206
 Ruiz-Ruiz, S., 151, 222, 246, 247
 Ruz, L., 75, 321
 Saa, A., 274
 Sabaté, J., 170, 260, 315
 Sabater-Muñoz, B., 110, 256
 Sacristán, G., 424, 427
 Sacristán, M., 198, 199
 Sacristán, S., 187
 Saenz de Urturi, F., 277
 Sáenz M., 67
 Sainz M.J., 422
 Sampedro, L., 203

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/IAS

- San Segundo, B., 366
 Sánchez Durán, S., 103, 104
 Sánchez Marquez, S., 202
 Sánchez, J.M., 295
 Sánchez, M.E., 269, 270, 322, 373, 393
 Sánchez, V., 406
 Sánchez-Elordi, E., 198
 Sánchez-Jiménez, V., 194
 Sánchez-Navarro, J.A., 135, 151, 234, 351
 Sánchez-Pulido, J. M., 387
 Sánchez-Torres, P., 142, 185, 188
 Sandín-España, P., 410
 Sandoval-Jiménez, D.E., 244
 Sanjuán, S., 301, 306
 Santamaría, O., 174
 Santander, R.D., 88, 258
 Santiago, R., 186, 197, 200
 Santos, E., 117
 Sanz-Ros, A.V., 190
 Sarro, A., 143, 416
 Sastre-Conde, I., 331
 Schiliro', E., 100, 402
 Segarra, G., 399, 400
 Segarra, J., 112, 281
 Sempere, R.N., 219
 Sena, M., 94, 369
 Serra, P., 150
 Serrano, M.S., 269, 270, 322, 373, 393
 Serrano, Y., 320
 Serra-Soriano, M., 213
 Serra-Yoldi, M.T., 120, 217, 224
 Shaw, M.W., 261
 Simeto, S., 116
 Sisquella, M., 374
 Siverio, F., 176, 301, 309
 Solas, M.T., 200
 Soler, N., 214, 216
 Soler, S., 211, 212
 Soliveri, J., 102
 Solla, A., 203
 Sorribas, F. J., 119, 143, 205, 209, 232, 335
 Steinbrenner, A., 132
 Sugio, A., 59
 Sundin, G. W., 56, 169
 Taboada, A., 171, 265
 Teixeira Santos, M., 108
 Teixidó, N., 118, 140, 156, 201
 Tello, M. L., 230, 327, 378, 394
 Tello, V., 128, 228
 Tena, F., 120, 224
 Tercero Ruiz, Z., 103, 104
 Tharreau, D., 240
 Thiel, B., 169
 Timchenko, T., 225
 Tirado, S., 198
 Torés, J.A., 323, 387, 417
 Tornos, T., 348, 349
 Torres, E., 170, 315
 Torres, R., 118, 156, 201
 Torres, V., 398
 Torró,l., 240
 Trapero, A., 79, 85, 180, 241, 242, 267, 269, 270, 322, 373, 390, 391, 393
 Trapero, C., 178, 179
 Trapero-Casas, J.L., 107, 266, 377
 Trillas, M.I., 398, 399, 400
 Troisi, M., 196
 Troya, M., 411
 Truniger, V., 149, 218, 219
 Tur, E.L., 123
 Úrbez-Torres, J. R., 329
 Urkola, A., 282
 Ursua, B., 191
 Usall, J., 112, 118, 140, 156, 281, 374
 Valderrama, R., 100
 Valenciano, J.B., 379
 Valentines, C., 118
 Valero, J., 335
 Valverde-Corredor, A., 133
 Vázquez, G., 280, 420, 421
 Vázquez-Jiménez, J.L., 403
 Vázquez-Ruiz de Ocenda, R.A., 273, 274
 Vela, D., 417
 Vela-Delgado, M.D., 194
 Velasco, L., 347
 Velázquez, K., 246, 247, 248
 Velázquez-Monreal, J.L., 403
 Veloso, J., 160, 171, 265, 376
 Ventolà, A., 364
 Vercauteren, A., 134
 Verdejo-Lucas, S., 119, 205, 232
 Vergara, A., 79
 Veronico, P., 204
 Vicent, A., 111, 318, 330
 Vicente Domínguez, M., 242
 Vicente, C., 184, 186, 197, 198, 199, 200

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES/IAS

Vidal, E., 343, 429
Vilanova, L., 201
Villaescusa, F.J., 301, 306, 307
Villarino, M., 112, 126, 189, 281, 410
Viñas, I., 118, 140, 156, 201, 374
Vives, M.C., 246, 247, 248
Ward, J. L., 132
Wingfield, M.J., 325
Xaviér, C.J., 180
Yáñez, V., 156
Yanguas-Casás, N., 237
Yokomi, R.K., 343
Yuste, A., 123, 431
Zabalgogeoazcoa, I., 202
Zarco-Tejada, P., 107
Zarza, O., 248
Zas, R., 203
Zeriouh, H., 156, 159, 428
Zhou, Z.D., 325
Zied, D.C., 334
Zumaquero, A., 165
Zuriaga, P., 357

ENTIDADES ORGANIZADORAS



Gipuzkoako Foru Aldundia
Diputación Foral de Gipuzkoa

Garapen Iraunkorrerako Departamentua
Departamento para el Desarrollo Sostenible



Arabako Foru Aldundia
Diputación Foral de Álava



Bizkaiko Foru Aldundia
Diputación Foral de Bizkaia

ENTIDADES COLABORADORAS



EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO

INGURUMEN, LURRALDE
PLANGINTZA, NEKAZARITZA
ETA ARRANTZA SAILA

DEPARTAMENTO DE MEDIO AMBIENTE,
PLANIFICACIÓN TERRITORIAL,
AGRICULTURA Y PESCA



ENTIDADES Y EMPRESAS PATROCINADORAS



