

V REUNIÓN DEL GRUPO ESPECIALIZADO EN DETECCIÓN, DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN



HUELVA

17 a 19 octubre 2023

Centro Cultural JOSÉ LUIS GARCÍA PALACIOS
Salón de Actos de Fundación Caja Rural del Sur.
C\ Alcalde de Mora Claros, 6-8.

Organizan:



Colaboran:



Comité organizador

Salud Orta Cordero

Laboratorio Control Oficial Agroalimentario y Agroganadero
Junta de Andalucía. Huelva.

José Luis Palomo Gómez

Centro Regional de Diagnóstico.
Junta de Castilla y León, Salamanca.

Agradecimientos

Fotografía: Francisco José Romero Montilla

Diseño gráfico: Manuel Mayorga Artime

Índice

Programa

1ª Sesión: Bacterias y Fitoplasmas

2ª Sesión: Virus y Viroides I

3ª Sesión: Virus y Viroides II

4ª Sesión: Nematodos

5ª Sesión: Hongos y Oomicetos I

6ª Sesión: Hongos y Oomicetos II

7ª Sesión: Hongos y Oomicetos III

8ª Sesión: Temas generales

PROGRAMA

Martes 17 de Octubre

10:00-14:00 Visita opcional: “Visita Opcional a la empresa Agrícola de frutos rojos El Bosque en Lucena del Puerto”

Sede: Centro Cultural José Luis García Palacios. Salón de Actos de la Fundación Caja Rural del Sur. C/ Alcalde Mora Claros 6-8, 21001 Huelva

16:00-16:30 Inauguración de la Reunión

- Diego Olmo García (Junta Directiva de la Sociedad Española de Fitopatología, SEF)
- Jose Luis Palomo Gómez (Presidente del Grupo Especializado en Diagnóstico de la SEF)
- Salud Orta Cordero (Laboratorio de Control Oficial Agroalimentario y Agroganadero de Huelva)

16:30-18:30 1ª Sesión: Bacterias y Fitoplasmas

Moderadores: Ester Marco Noales
María Teresa Urrutia Herrada

COD	TEMA	PONENTE
B-1	Utilización de genómica comparativa para el desarrollo de nuevos protocolos de PCR para la detección de tres patovares importantes de la especie <i>Xanthomonas arboricola</i>	Ana Palacio Bielsa
B-2	Protocolo de detección de bacterias viables por PCR	Mª Pilar Sabuquillo Castrillo
B-3	Chancro espumoso en almendros de Extremadura. Presencia de <i>Zymobacter palmae</i> , como posible agente causal	Cristina Arribas Fernández
B-4	Detección del complejo de especies <i>Ralstonia solanacearum</i> en material vegetal importado (interceptaciones en frontera)	Silvia Barbé Martínez
B-5	Nuevos protocolos ISHI-VEG para la detección de patógenos en semillas de hortalizas (periodo 2020-2023)	Jerson M. Garita Cambrero
B-6	La Secuenciación Masiva: ¿una herramienta útil para el diagnóstico de enfermedades provocadas por bacterias en las plantas?	Jaime Cubero Dabrio

18:30 Pausa

19:00-19:40 2ª Sesión: Virus y Viroides I

Moderadores: Jesús Ángel Sánchez Navarro
Ana Belén Ruiz García

COD	TEMA	PONENTE
V-1	Últimas incidencias de virus en cultivos hortalizas protegidos en Almería	Paloma Castillo Mateo
V-2	Detección de virus en tomate con manchado de fruta (TSWV, PepMV, ToBRFV y ToFBV)	Ana Isabel Espino de Paz

Miércoles 18 de Octubre
9:00-10:20 3ª Sesión: Virus y Viroides II

Moderadores: Paloma Castillo Mateo
Milagros Marín Terrazas

COD	TEMA	PONENTE
V-3	Restricciones derivadas de la longitud de las polisondas y de la posición de las sondas individuales en la sensibilidad de la detección de virus y viroides	Jesús Ángel Sánchez Navarro
V-4	Detección de virus y fitoplasmas mediante indexaje biológico en plantas candidatas a madre inicial de fresa	Jose Luis Palomo Gómez
V-5	<i>Penicillimonavirus gammaplasmodiae</i> , ¿micovirus o virus vegetal?: avances en el conocimiento de la familia <i>Myomonaviridae</i> .	Ana Belén Ruiz García
V-6	Método de alta inclusividad basado en RT-PCR cuantitativa a tiempo real para la detección general del virus del enrollado de la hoja de la vid 1	Antonio Olmos Castelló

10:20 Pausa – Café
11:00-12:40 4ª Sesión: Nematodos

Moderadores: Ramona M Muñoz Gómez
Remedios Santiago Merino

COD	TEMA	PONENTE
N-1	Detección de <i>Bursaphelenchus arthuri</i> y <i>Aphelenchoides</i> sp asociados a malformaciones foliares en fresa	Adela Abelleira Argibay
N-2	Extracción de ADN y PCR a tiempo real de <i>Bursaphelenchus xylophilus</i> y <i>Bursaphelenchus mucronatus</i> .	Paula Zamora Brauweiler
N-3	Última revisión de los protocolos de diagnóstico para <i>Globodera</i> spp y <i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	Lee Robertson
N-4	Primera detección en España de <i>Meloidogyne chitwoodi</i> en tubérculos de patata	Jose Luis Palomo Gómez
N-5	Detección e identificación del nematodo del arroz <i>Meloidogyne graminicola</i> .	Lee Robertson

13:00 Ponencia: ““Diagnóstico clásico vs. diagnóstico molecular: el caso de la Seca de los Quercus”
**María S. Serrano Moral
(ETSIAM Univ. Córdoba)**
14:00 Almuerzo

16:00-17:40 5ª Sesión: Hongos y Oomicetos I

Moderadores: Manuel Avilés Guerrero
Diego Olmo García

COD	TEMA	PONENTE
H-1	Multiplex qPCR para la detección y cuantificación simultánea de hongos de la familia <i>Botryosphaeriaceae</i> en almendro	Laura Romero Cuadrado
H-2	<i>Botryosphaeria</i> spp en diversos cultivos de Canarias	Ana Isabel Espino de Paz
H-3	Decaimiento del kiwi en la Comunidad Valenciana	Ana Pérez Sierra
H-4	PCR Multiplex en tiempo real para detección de hongos patógenos en cítricos	Maria Isabel Aguilar Pérez
H-5	Uso de imágenes hiperespectrales para la identificación de enfermedades en <i>Agrostis stolonifera</i> mediante algoritmos de Machine Learning	Celia Borrero Vega

17:40 Pausa
18:20-19:40 6ª Sesión: Hongos y Oomicetos II

Moderadores: Nieves Capote Mañez
Maria Isabel Aguilar Pérez

COD	TEMA	PONENTE
H-6	Podredumbre de cuello y raíces en granado causado por <i>Phytophthora</i> spp.	Ana Pérez Sierra
H-7	Primera detección en España de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> causando seca y pudrición en brotes de Vid	Diego Olmo García
H-8	Detección de <i>Verticillium dahliae</i> a partir de suelo	Ramona María Muñoz Gómez
H-9	Amarilleos y decaimientos de <i>Celtis australis</i> , ¿asociados a hongos y fitoplasmas?	Diego Olmo García

Jueves 19 de Octubre
9:00-10:40 7ª Sesión: Hongos y Oomicetos III

Moderadores: Ana Pérez Sierra
Juana Isabel Páez

COD	TEMA	PONENTE
H-10	Especies de <i>Phytophthora</i> en los cultivos de frutos rojos en Huelva	Ana María Pastrana León
H-11	Caracterización genética de los aislados de <i>Neopestalotiopsis</i> spp. que afectan al cultivo de la fresa en España.	Patricia López González
H-12	Caracterización patogénica de los aislados de <i>Neopestalotiopsis</i> spp. que afectan al cultivo de la fresa en España.	Manuel Avilés Guerrero
H-13	Primera detección en España de <i>Diaporthe vexans</i> en berenjena	Maria Isabel Aguilar Pérez
H-14	¿Qué les pasa a los cipreses? Detecciones y diagnósticos de plagas y enfermedades de cupresáceas en Baleares durante los últimos 22 años.	Diego Olmo García

10:40 Pausa – Café**11:20-13:30 8ª Sesión: Temas generales**Moderadores: Ana Palacio Bielsa
Adela Abelleira Argibay

COD	TEMA	PONENTE
G-1	Detecciones fitosanitarias en muestras de exportación	Ramona María Muñoz Gómez
G-2	Verificación de métodos internos basados en métodos normalizados por la técnica de PCR	Carmen Rodríguez Salido
G-3	Curso BTSF de la Comisión Europea sobre brotes de enfermedades vegetales y planes de contingencia	Rafael Flores González
G-4	Galería fotográfica del GEDDI, actualización de estado	Diego Olmo García
G-5	Diccionario de Fitopatología: resultado del trabajo de la Comisión de Léxico	Juana Isabel Páez
G-6	El GEDDI: situación actual y evolución	Jose Luis Palomo Gómez

13:30 Clausura**14:00 Almuerzo**

1ª SESIÓN

Bacterias y Fitoplasmas

Moderadores

Ester Marco Noales

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias IVIA
(Moncada, Valencia)

M.ª Teresa Urrutia Herrada

Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería



UTILIZACIÓN DE GENÓMICA COMPARATIVA PARA EL DESARROLLO DE NUEVOS PROTOCOLOS DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE TRES PATOVARES IMPORTANTES DE LA ESPECIE *Xanthomonas arboricola*

Palacio-Bielsa, A.¹; Berruete, I.M.¹; Palomo, J.L.²; Iribarren, J.²; Sastre, S.³; Cuesta-Morrondo, S.^{3,4}; Martín, L.³; Cubero, J.³

¹Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza) (apalaciob@aragon.es).

²Centro Regional de Diagnóstico (Junta de Castilla y León).

³Centro Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria/Consejo Superior de Investigaciones Científicas (INIA/CSIC).

⁴Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid.

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (Xap), *X. arboricola* pv. *juglandis* (Xaj) y *X. arboricola* pv. *corylina* (Xaj) son bacterias que ocasionan graves daños en *Prunus* spp., nogal y avellano, respectivamente.

En este trabajo, y mediante análisis de genómica comparativa, se han diseñado protocolos de PCR en tiempo real (qPCR), para Xap, Xac y Xaj, basados en elementos de los genomas identificados como específicos dentro de los tres patovares. Se seleccionaron los genes *virB6* y *htpG*, correspondientes a una proteína de virulencia y una chaperona de respuesta a estrés, respectivamente, en Xap; el efector de virulencia *avrXacE1* y un receptor de quimiotaxis tipo MCP de Xac; y un gen codificante de una enzima celulolítica y un transportador tipo TonB en Xaj. La especificidad de los protocolos se evaluó frente a suspensiones de concentración 10^8 ufc/ml de 76 cepas de 20 especies de *Xanthomonas* patógenas y no patógenas, procedentes de diversos huéspedes y orígenes geográficos, así como frente a extractos de ADN de 13 cepas de la microbiota de los tres huéspedes y a extractos de material vegetal sano de estos. Los niveles de sensibilidad de los protocolos de qPCR se determinaron mediante análisis de extractos de ADN de muestras vegetales cebadas con suspensiones (10^7 - 10^8 ufc/ml) de cepas tipo de Xap, Xaj y Xac aisladas en España.

Para validar los protocolos de qPCR se realizó un ejercicio colaborativo entre distintos laboratorios analizando tres réplicas de cada cepa y valorándose la sensibilidad, inclusividad, exclusividad, especificidad analítica, repetitividad y reproducibilidad, marcados por la EPPO.

Las qPCRs son específicas para Xap con cebadores de *htpG* y *virB6*, para Xac con el efector de virulencia *avrXacE1*, y para Xaj con cebadores basados en el transportador tipo TonB. Los protocolos ofrecen un nivel de sensibilidad de 10^3 - 10^8 ufc/ml, adecuado para su uso rutinario en la detección de estos tres patógenos. Estas metodologías contribuyen a mejorar el diagnóstico de las tres enfermedades referidas con el empleo de estrategias de amplificación que o bien pueden sustituir o complementar a las actuales.

Este trabajo forma parte de los proyectos RTI2018-96018-R-C31 y PID2021-123600OR, financiados por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033/ y por "FEDER Una manera de hacer Europa".

PROTOCOLO DE DETECCIÓN DE BACTERIAS VIABLES POR QPCR

Sabuquillo, P.¹; Palacio-Bielsa, A.²; Berruete, I.M.²; Cubero, J.¹

¹ Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria/Consejo Superior de Investigaciones Científicas (INIA/CSIC) (mpsc@inia.csic.es);

² Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza)

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (Xap), agente causal de la mancha bacteriana en *Prunus* spp, es un patógeno importante en melocotonero, nectarino, ciruelo y almendro. Xap provoca síntomas en hojas, frutos, ramas y troncos de los árboles y, en infecciones severas, puede afectar a la producción. Esta bacteria distribuida mundialmente está clasificada por la Unión Europea como organismo regulado no cuarentenario.

Las organizaciones nacionales e internacionales de protección fitosanitaria recomiendan protocolos de diagnóstico de enfermedades que permitan una mejor gestión del riesgo y establecen recomendaciones para el control sanitario de las especies de importancia económica para la agricultura. Muchas técnicas de detección y diagnóstico, y especialmente aquellas basadas en técnicas de biología molecular, no atienden a la viabilidad de los microorganismos, lo que suscita en ocasiones dudas sobre el peligro epidemiológico que suponen las muestras positivas. En este contexto, se ha estudiado el desarrollo de un protocolo de detección de bacterias viables mediante qPCR combinada con el uso de agentes intercalantes de ADN. Estos agentes penetran en células muertas que tienen la membrana comprometida, intercalándose covalentemente al ADN, e impidiendo su posterior amplificación por PCR.

En este trabajo se ha estudiado la utilización de distintos agentes intercalantes antes de la amplificación por qPCR. Los ensayos se realizaron tanto a partir de cultivos puros de Xap como de material vegetal inoculado con esta bacteria, determinándose la capacidad de la técnica para la detección exclusiva de bacterias viables y estimándose parámetros como la posible interferencia de los agentes intercalantes en el protocolo de qPCR o en la viabilidad de Xap.

Concluimos que el método de diagnóstico propuesto ofrece resultados prometedores para laboratorios de diagnóstico y en estudios de investigación, ya que la adición de agentes intercalantes permite determinar la presencia de bacterias con verdadera capacidad infectiva. Este protocolo pretende contribuir a la mejora de la sostenibilidad medioambiental al proporcionar una metodología que permitirá ajustar las medidas de control a las necesidades reales.

Este trabajo forma parte de los proyectos RTI2018-96018-R-C31 y PID2021-123600OR, financiados por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033/ y por “FEDER Una manera de hacer Europa”.

CHANCRO ESPUMOSO EN ALMEDROS DE EXTREMADURA. Presencia de *Zymobacter palmae*, como posible agente causal.

Arribas, M.C.

¹Laboratorio de Diagnóstico de Sanidad Vegetal de Badajoz. Junta de Extremadura (cristina.arribas@juntaex.es).

Desde el 2018 se han recibido varias muestras de almendros, variedad Lauranne, de distintas zonas de la provincia de Badajoz, con chancros con emanación de espuma y un característico olor a cerveza, llegando a formar charcos alrededor de la base del tronco.

Se han enviado al LNR encontrando *Zymobacter palmae* en las muestras.

En agosto de 2022, llega otra muestra de una parcela de 90 has con una alta incidencia de esta patología.

En nuestro laboratorio se procesa para, *Phytophthora* sp, *Xylella fastidiosa* y batería de virus frutales, dando resultados negativos en todos los análisis. También se procede a hacer dislacerado de zona limítrofe de la zona subcortical, y extracción de ADN y ARN del mismo tipo de material vegetal. Se envía al LNR, muestra de almendro, cultivos bacterianos con morfología coincidente para *Zymobacter palmae*, y extractos de ADN y ARN.

Los resultados obtenidos son los siguientes:

- De los **cultivos bacterianos** recibidos en LPGA se seleccionaron dos colonias con aspecto de *Zymobacter palmae*. Analizadas mediante dos protocolos de PCR convencional desarrollados en el IVIA para detección de *Z. palmae*, basados en el gen 16SrRNA y el gen de la piruvato carboxilasa, los resultados fueron **positivos en ambas colonias**.

- Tanto de los **extractos de ácidos nucleicos recibidos** como de las **extracciones de ADN de las muestras recibidas** se realizaron diversas PCRs convencionales con los siguientes resultados:

- Las dos PCRs convencionales citadas para detectar *Z. palmae*, cuyo resultado fue **positivo**.
- Dos protocolos de PCR convencional para la detección universal de *Lonsdalea* spp y *Brenneria* spp. desarrollados en el IVIA, basados en el gen 16S rRNA, cuyo resultado fue **negativo**.
- Tres protocolos de PCR convencional para la detección de *Lonsdalea britannica*, *Brenneria goodwini* y *Gibbsiella quercicans* (Crampton et al., 2020), cuyo resultado fue **negativo**.

Por tanto, se ha aislado e identificado la bacteria *Zymobacter palmae*, y se han descartado otras bacterias que podrían estar asociadas a esta enfermedad de etiología desconocida.

Con todos estos resultados y en coordinación con el LNR, en agosto de 2022, se procedió a una toma de muestra masiva. 60 muestras de zona subcortical, (20 asintomáticas, 20 inicio de síntoma, 20 con síntomas patentes), para el estudio sobre las bacterias asociadas al Chancro Espumoso del Almendro.

Durante la toma de muestra y según los datos recibidos, encontramos varios factores comunes; un exceso de agua en las parcelas, muy cuidadas y abonadas, suelos más o menos fuertes y todas de la variedad Lauranne. Si bien la presencia de *Zymobacter palmae* es indiscutible, también creemos que estos factores abióticos, son importantes en el desarrollo de esta etiología.

DETECCIÓN DEL COMPLEJO DE ESPECIES *Ralstonia solanacearum* EN MATERIAL VEGETAL IMPORTADO (INTERCEPTACIONES EN FRONTERA)

Barbé, S., Morán, F., Monterde, A., Navarro-Herrero, I., Salas-Sierra, C., Marco-Noales, E.

Bacteriología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (barbe_sil@gva.es)

El incremento del comercio ha aumentado el riesgo de introducción de nuevas plagas y enfermedades. Los daños medioambientales y las pérdidas en la producción agrícola pueden ser muy severos. Por lo tanto, es esencial tomar medidas para evitar la introducción y propagación de organismos foráneos. Nuestro laboratorio, como Laboratorio Nacional de Referencia de Bacterias Fitopatógenas, proporciona un apoyo esencial a los Puntos de Control en Frontera (PCF), analizando las muestras que, conforme a la legislación vigente, son enviadas por los inspectores de los PCF.

En 2023, hemos analizado 184 muestras de importaciones de diferentes especies vegetales llegadas a distintos puertos de la geografía española. En más del 89% de estas muestras (158 de tubérculos de patata, 5 de rizomas de jengibre y 2 de cacahuets con cáscara) se solicitaba el análisis para el complejo de especies de *Ralstonia solanacearum*, de acuerdo con el Reglamento de Ejecución (UE) 2022/1193 y el protocolo EPPO PM 7/21 (3). En el caso de los tubérculos de patata, se separaban cuñas de la parte basal de 200 de ellos, y aquellos con síntomas se analizaban de modo individual. En los rizomas de jengibre, se procedía a hacer un dilacerado de la parte interna, en la zona de los haces vasculares. Por último, se estableció *de novo* un protocolo para los cacahuets, procesando, por un lado, la zona del pedúnculo donde se concentran los haces vasculares y, por otro, las manchas pardas que presentaban algunas cáscaras. En todos los casos, una vez extraído el ADN mediante el kit DNeasy Plant Mini (Qiagen), se analizaba mediante PCR en tiempo real según Vreeburg *et al.* (2016). Si el resultado era positivo se analizaba también mediante el protocolo de PCR en tiempo real NYtor (Vreeburg *et al.*, 2018) y el de PCR convencional de Pstrik *et al.* (2002), además de intentar el aislamiento a partir de la muestra en medio semi-selectivo mSMSA. Las colonias con morfología típica se sometían a dos pruebas de identificación: la PCR ya citada de Vreeburg *et al.* (2016) y la PCR convencional multiplex de filotipo específico (Opina *et al.*, 1997; Fegan y Prior, 2005).

De las 158 muestras de tubérculos de patata procedentes de Egipto, en dos de ellas se confirmó la presencia de *R. solanacearum* (filotipo II). En una de las muestras de jengibre, de Perú, se confirmó la presencia de *Ralstonia pseudosolanacearum* (filotipo I), mientras que en una muestra de cacahuets, de China, se detectó *R. pseudosolanacearum*, aunque no se consiguió su aislamiento. Estos resultados demuestran el riesgo de entrada de estas peligrosas bacterias a través de material sintomático o en forma latente.

NUEVOS PROTOCOLOS ISHI-VEG PARA LA DETECCIÓN DE PATÓGENOS EN SEMILLAS DE HORTÍCOLAS (PERIODO 2020-2023)

Olivares, P.¹ Viles, A.M.^{2,3}; Ursúa B.^{2,4}; Rodríguez-Quilón, I.⁵; Lorenzo, Z.⁵; Fernández-Getino, A.P.⁵ y Garita-Cambronero, J.^{1,2}

¹ Asociación Nacional de Obtentores Vegetales (ANOVE), Antonio Maura 7, 28014 Madrid (jgarita@anove.es).

² International Technical Group, International Seed Health Initiative for Vegetal Crops (ISHI-Veg), Chemin du Reposoir 7, 1260 Nyon, Switzerland.

³ Semillas Fitó, Selva de Mar 111, 08019 Barcelona.

⁴ Semillas Ramiro Arnedo, Gral. Gallarza 38, 26500 Calahorra.

⁵ DTEVL Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) Ctra. de la Coruña km 7,5, 28040 Madrid.

La evaluación de la sanidad de las semillas forma parte de las herramientas integradas en la producción y comercialización de material de siembra de calidad. De hecho, se trata de una de las estrategias fitopatológicas que disminuyen la posibilidad de diseminación de aquellos patógenos transmisibles por semillas. Desde la década de 1990 la sanidad de las semillas no se considera un factor de competencia comercial, sino que se trabaja de manera conjunta a través de la Iniciativa Internacional para la Sanidad de las Semillas (ISHI-Veg) perteneciente a la Federación Internacional de las Semillas (ISF). Esta iniciativa, engloba especialistas tanto de la industria como de centros de investigación públicos y privados, los cuales representan al 75% de las instituciones dedicadas a esta temática a nivel mundial.

A partir de 2020, ISHI-Veg ha cambiado su forma de trabajar alineando sus requisitos de validación con los de otras instituciones especializadas (EPPO, ISTA, NSHS) y poniendo a disposición de la comunidad científica tanto los métodos desarrollados, como los datos y análisis asociados a su validación.

En este trabajo, se hará una breve descripción del proceso de validación actual utilizado por ISHI-Veg con carácter general, así como la presentación de los nuevos protocolos desarrollados por esta iniciativa desde 2020 para *c. Liberibacter solanacearum*, *Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*, *Acidovorax citrulli*, *Pseudomonas syringae*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) y *Pepino mosaic virus* (PepMV), haciendo especial énfasis en aquellos protocolos en los que el equipo español de ISHI-Veg ha participado de manera directa en su desarrollo y validación (Cmm y PepMV). Asimismo, se darán a conocer los proyectos actuales, cuya validación está en proceso.

LA SECUENCIACIÓN MASIVA: ¿UNA HERRAMIENTA ÚTIL PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES PROVOCADAS POR BACTERIAS EN LAS PLANTAS?

Cuesta-Morrondo, S.^{1,2}, Garita-Cambronero, J.³, Redondo, C.¹, Cubero, J.¹

¹Centro Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria/Consejo Superior de Investigaciones Científicas (INIA/CSIC).

²Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España³Asociación Nacional de Obtentores Vegetales (ANOVE).

Las técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos han evolucionado de forma muy significativa en los últimos años, convirtiéndose en instrumentos indispensables en cualquier laboratorio de microbiología que pretenda profundizar en aspectos como la supervivencia o virulencia de las bacterias. Además, y gracias a su avance, hoy en día o bien proporcionan información precisa que ayuda al diseño de nuevas estrategias de diagnóstico, o se aplican en la detección e identificación directa de los patógenos en las muestras vegetales, facilitando un mejor planteamiento de métodos de control.

En este trabajo se presenta, en primer lugar, información relativa al diseño de estrategias de qPCR para el diagnóstico de dos enfermedades provocadas por bacterias en plantas, la canchros de los cítricos y la mancha bacteriana de los frutales de hueso y el almendro. Respecto a la canchros, se discutirá la influencia de las técnicas disponibles en el momento en la identificación errónea del agente causal de la mancha bacteriana de los cítricos y que determinó la erradicación de numerosos árboles en Florida (EEUU) a finales del siglo XX. En un segundo ejemplo, se hace referencia a la diferenciación de cepas look-a-like en el caso de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y almendro, gracias a la secuenciación de genomas de *Xanthomonas* aisladas de *Prunus*. Finalmente, se presentará la aplicación de tecnologías de análisis de la microbiota en el caso de *Candidatus Liberibacter* y se discutirá sobre su utilidad para el diagnóstico de enfermedades de plantas.

Este trabajo forma parte de los proyectos RTI2018-96018-R-C31 y PID2021-123600OR financiados por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033/, por “FEDER “Una manera de hacer Europa” y PRE2019-090846 “El FSE invierte en tu futuro”.

2ª SESIÓN

Virus y Viroides I

Moderadores

Jesús Ángel Sánchez Navarro Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas
(CSIC-UPV) Valencia

Ana Belén Ruiz García Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias IVIA
(Moncada, Valencia)



INCIDENCIAS DE VIRUS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS PROTEGIDOS EN ALMERÍA

Ruiz Nieto, MA.¹; Castillo, P.¹

¹Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería. AGAPA. Junta de Andalucía (paloma.castillo@juntadeandalucia.es).

Durante la última campaña y hasta la actualidad ha habido una gran incidencia de virus transmitidos por pulgones en los cultivos de Cucurbitáceas, siendo el grupo de la familia de Potyvirus y CABYV (*Cucurbit aphid-borne yellows virus*) los más destacados así como también los transmitidos por mosca blanca como ToLCNDV (*Tomato Leaf Curl New Delhi virus*) en calabacín y pepino, si bien CGMMV (*Cucumber green mottle mosaic virus*) en muestras de pepino y sandía sigue siendo un problema importante.

En el caso de las Solanáceas la incidencia que observamos es debida a virus transmitidos por trips, contacto, pulgón y por ácaros.

En pimiento destacamos PeVYV (*Pepper vein yellows virus*) transmitido por pulgón y TSWV (*Tomato spotted wilt virus*), además de virus del género Tobamovirus.

En el cultivo de tomate sigue siendo muy importante las detecciones de PepMV (*Pepino mosaic virus*) así como las de ToBRFV (*Tomato brown rugose fruit virus*).

Además hemos realizado la primera detección de ToBFV, *Tomato fruit blotch virus*. Recibimos en nuestro laboratorio una muestra de tomate procedente de Níjar provincia de Almería con síntomas de decoloración en frutos y presencia abundante del ácaro *Aculops lycopersici*. Al tener decoloraciones en forma de círculos concéntricos en frutos lo analizamos para PepMV, TSWV y ToBRFV en nuestro laboratorio siendo negativo para todos ellos y por ello ante la sospecha de que fuera ToBFV lo enviamos al LNR para la Identificación y Diagnóstico de Virus y Fitoplasmas de Especies no Leñosas. El resultado obtenido era el esperado para ToFBV por RT-PCR y por secuenciación nucleotídica. Es un virus de la familia Kitaviridae, género Blunervirus. Esta familia comparte aspectos epidemiológicos como sintomatología, falta de movimiento sistémico y transmisión mediada por ácaros. Los síntomas en frutos de tomate se observan falta de maduración con manchas y formación de hoyuelos.

DETECCIÓN DE VIRUS EN TOMATE CON MANCHADO DE FRUTA (TSWV, PEPMV, TOBRFV Y TOFBV)

Espino de Paz, A.I.¹ y Botella-Guillén, M¹

¹Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias (aesppazgobiernodecanarias.org)

Durante el año 2023 hemos recibido en el Laboratorio por parte de La Inspección de Sanidad Vegetal de Tenerife, alrededor 50 muestras de fruto tomate para consumo de varios orígenes de La Península (Murcia, Almería y Sevilla) de diferentes tipos (Negro, bola y pera) con síntomas de manchado, mosaico y jaspeado. Según los síntomas observados en los frutos de tomate, podría tratarse de diferentes virosis como PepMV, TSWV, ToMV, ToBRFV, ToMMV y ToFBV. Todas las muestras son rechazadas, una vez que los análisis realizados en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, hayan resultado positivos para cualquiera de las virosis mencionadas anteriormente por parte de la ISV a los diferentes Importadores.

Las muestras se han analizado mediante técnicas Inmunoenzimáticas: ELISA-DAS para los virus TSWV, PepMV y ToMV y Moleculares: RT-PCR a tiempo real para ToBRFV y RT-PCR convencional para ToFBV y ToMMV

Los resultados han revelado, que la mayoría de los frutos de tomate manchados han resultado positivas para ToBRFV y PepMV asociados. En varios se ha detectado también TSWV y en casos excepcionales ToFBV.

Algunos de estos virus detectados en el Laboratorio, se han podido relacionar con los síntomas observados en las diferentes muestras de tomate.

3ª SESIÓN

Virus y Viroides II

Moderadores

Paloma Castillo Mateo

Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería

Milagros Marín Terrazas

Laboratorio Regional de la Rioja. Logroño.



Restricciones derivadas de la longitud de las polisondas y de la posición de las sondas individuales en la sensibilidad de la detección de virus y viroides

Ojinaga, M.¹; Larregla, S.¹; Alfaro-Fernández, A.²; Font-San Ambrosio, M.I.²; Pallás, V.³ y Sánchez-Navarro, J.A.³

¹Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, NEIKER. Centro de Derio (Vizcaya).

²Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València.

³Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP) (UPV-CSIC). Universitat Politècnica de València (jesanche@ibmcp.upv.es).

La técnica de hibridación molecular no radioactiva, utilizando "polisondas" o sondas con diferentes secuencias de ácido nucleico (200-400 nt) de diferentes virus y/o viroides fusionados en tándem, facilita la detección simultánea de múltiples patógenos. A pesar de las claras ventajas de las polisondas, no existen datos reportados que analicen el número máximo de patógenos diferentes que podrían detectarse sin afectar la sensibilidad de la técnica. En este sentido, en el presente trabajo hemos desarrollado tres polisondas con capacidad para detectar 9 (Poly9), 12 (Poly12) o 21 (Poly21) virus, que representan respectivamente los virus menos prevalentes, los más prevalentes o ambos tipos de virus, que afectan al cultivo del pimiento en la región estudiada (Vizcaya).

El límite de detección de las polisondas, determinado utilizando cantidades conocidas de transcritos complementarios, fue algo menor que el de las sondas individuales (0,06-1,6 pg/μl), alcanzando concentraciones de hasta 0,32 pg/μl, 1,6 pg/μl y 1,6-8 pg/μl de ARN viral con las sondas poli9, poli12 y poli21, respectivamente. El análisis de diluciones seriadas de extractos (1:5) de plantas de pimiento con infecciones simples para cinco virus diferentes, utilizando sondas individuales, polisondas y DAS-ELISA, reveló que el límite de detección de las sondas individuales fue similar para algunos virus (tomato mosaic virus, ToMV; pepper mild mottle virus, PMMoV; potato virus Y, PVY; tobacco mild green mosaic virus, TMGMV) o 5 veces menor (cucumber mosaic virus, CMV) en comparación con DAS-ELISA. Sin embargo, cuando se utilizaron las polisondas poli12 y poli21 este límite de detección disminuyó 5 veces y 25/125 veces, respectivamente, excepto para CMV y ToMV, que generaron mejores límites de detección utilizando poli21 en lugar de poli12. Estos resultados podrían explicarse en base a la localización de la secuencia correspondiente en la polisonda.

El análisis comparado de 85 muestras de pimiento con sondas individuales y las tres polisondas reveló que: i) poli9 no detectó ninguna muestra infectada, lo que sugiere que los virus incluidos en esta polisonda no son prevalentes en la zona estudiada; ii) poli12 y poli21 detectaron el 96% (48 de 50) de las muestras detectadas mediante sondas individuales; y iii) poli21 detectó el 90% (47 de 52) de las muestras detectadas mediante poli12. En resumen, los datos obtenidos indican que existen restricciones derivadas del tamaño de la polisonda y de la posición de las sondas individuales en la misma que condicionan la sensibilidad de esta tecnología.

DETECCIÓN DE VIRUS Y FITOPLASMAS MEDIANTE INDEXAJE BIOLÓGICO EN PLANTAS CANDIDATAS A MADRE INICIAL DE FRESA Y FRAMBUESA

Iribarren, J. y Palomo, J.L.

Centro Regional de Diagnóstico. Junta de Castilla y León (Aldearrubia, Salamanca) (jluís.palomo@jcy.l.es).

El Centro Regional de Diagnóstico (CRD) asumió en el año 2021 la responsabilidad de la detección de virosis y fitoplasmas en plantas de fresa y frambuesa candidatas a planta madre inicial para su certificación sanitaria a nivel nacional. El proyecto, financiado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, se realiza siguiendo las pautas establecidas en el Real Decreto 929/1995, por el que se aprueba el Reglamento técnico de control y certificación de plantas de vivero de frutales. Desde la concesión del proyecto han sido analizados en el CRD 1090 clones de ambas especies vegetales.

El CRD dispone de las instalaciones necesarias para la realización de estos análisis: invernaderos para indexaje biológico (IB) y un laboratorio de biología molecular para confirmación de resultados y análisis auxiliares. Tanto el RD 929/1995 como la EPPO, obligan al diagnóstico por IB mediante injertado y/o inoculaciones en hospedadores herbáceos. En las plantas de fresa las virosis detectadas son ArMV, RpRSV, SCrV, SLRSV, SMYEV, SMoV, SVBV y TBRV. Todas se detectan mediante injertado intraespecífico en los clones de fresa sensibles UC-5 y UC-10. En las plantas de frambuesa los patógenos detectados son ApMV, ArMV, BRNV, CMV, RpRSV, RBDV, RLMV, RVCV, RYNV, SLRSV, TBRV y 'Candidatus *Phytoplasma rubi*'. La detección se realiza por injertado interespecífico en los clones de fresa sensibles UC-5 y UC-10 y *Rubus occidentalis*; injertado intraespecífico sobre *Rubus idaeus* var. 'Baumforth's seedling'; e inoculación sobre *Chenopodium quinoa* y *Nicotiana occidentalis*.

El injertado sobre los clones sensibles se realiza retirando los folíolos centrales de tres hojas de la planta candidata con un corte a bisel, introduciéndolos en los correspondientes cortes longitudinales practicados en peciolo de la planta sensible, la cual solo conserva los folíolos laterales. Las plantas injertadas se mantienen a partir de entonces al 100% de HR y 21°C durante 21 días, tiempo tras el que se cortan todas las hojas antes de pasar durante 2 meses a las condiciones de invernadero a la espera de producción de hojas sintomáticas.

La inoculación sobre hospedadores herbáceos consiste en producir, en un tampón específico, un homogenizado de la planta candidata que será aplicado con un hisopo sobre hojas jóvenes de plántulas de *C. quinoa* y *N. occidentalis* espolvoreadas con carborundo. Las plantas se conservan entre 4 y 6 semanas en condiciones de invernadero a la espera de aparición de síntomas.

Penicillimonavirus gammaplasmaparae*, ¿MICOVIRUS O VIRUS VEGETAL?: AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA FAMILIA *Mymonaviridae

Ruiz García, A.B.¹; Morán, F.¹; Olmos A.¹

¹Laboratorio de Virología de Especies Vegetales Leñosas. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (ana.belen.ruiz@uv.es)

En este estudio identificamos *Penicillimonavirus gammaplasmaparae*, un mymonavirus presente en plantas de vid de la variedad Crimson seedless procedentes de Alicante que mostraban una inusual sintomatología de enrollado reverso o ascendente hacia el haz de las hojas y un decaimiento prematuro. Dos de estas plantas fueron analizadas por secuenciación masiva (HTS) donde se recuperaron en cada planta dos secuencias genómicas que potencialmente estaban relacionadas puesto que tenían regiones terminales conservadas y que podían corresponder al genoma de un virus bipartito. Para confirmar esta hipótesis se realizaron diferentes ensayos que incluyeron ultracentrifugación diferencial, microscopía electrónica, análisis filogenéticos y estudios de procesamiento de datos con SRAs (sequence read archives) disponibles en bases de datos públicas.

La familia *Mymonaviridae* es una familia que comprende nueve géneros de virus de ARN monocatenario de sentido negativo que infectan hongos, plantas e insectos. Aunque la primera descripción del genoma de un mymonavirus se realizó hace una década, la organización del genoma de varios géneros de la familia, incluido el género *Penicillimonavirus*, no se conocía hasta la fecha.

En este estudio se ha determinado el genoma completo de *P. gammaplasmaparae*, que representa la primera secuencia genómica completa para este género. Además, proporcionamos pruebas sólidas de que el genoma de *P. gammaplasmaparae* es bipartito y comprende dos moléculas de ARN de alrededor de 6.150 y 4.560 nt.

Nuestros resultados indican que en las plantas de vid con el síndrome descrito siempre se detecta el virus *P. gammaplasmaparae* y que en ellas también está presente el oídio *Erysiphe necator*. Sin embargo, queda por determinar si el hongo y/o el micovirus están asociados con la sintomatología descrita en vid y si es posible que el virus, además de infectar el hongo, tenga capacidad para infectar la planta.

MÉTODO DE ALTA INCLUSIVIDAD BASADO EN RT-PCR CUANTITATIVA A TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN GENERAL DEL VIRUS DEL ENROLLADO DE LA HOJA DE LA VID 1

Olmos, A.¹; Morán, F.¹; Ruiz García, A.B.¹

¹Laboratorio de Virología de Especies Vegetales Leñosas. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (olmos_antcas@gva.es)

La vid (*Vitis vinifera* L.) es uno de los cultivos más importantes del mundo debido a su impacto económico y social. Al igual que muchos otros cultivos, la vid es susceptible a diferentes tipos de enfermedades causadas por microorganismos patógenos. El virus del enrollado de la hoja de la vid 1 (GLRaV-1) es un patógeno que debe estar ausente en el material vegetal de propagación. Por esta razón, la disponibilidad de técnicas de detección específicas, sensibles y fiables para determinar el estado sanitario de las plantas es de gran importancia. La detección de este virus resulta especialmente problemática por métodos serológicos y moleculares, debido por una parte a la baja sensibilidad y reacciones cruzadas de los primeros métodos y por otra parte a la enorme diversidad genética de esta especie viral que complican el diseño de iniciadores y sondas capaces de reconocer todos los aislados en los métodos moleculares.

El objetivo de esta investigación fue el desarrollo de un nuevo método de detección de GLRaV-1 basado en una RT-PCR cuantitativa en tiempo real TaqMan dirigida a la región genómica de la proteína de la cápsida, incluyendo un control interno del huésped en forma de reacción dúplex. Con este fin, tres nuevos genomas completos de GLRaV-1, de España, Grecia y Eslovaquia fueron recuperados por HTS y alineados con 659 secuencias disponibles en las bases de datos. Para la puesta a punto se emplearon 65 muestras positivas de GLRaV-1 de diferente origen geográfico, España, Suiza, Eslovaquia, Túnez, Tailandia, Grecia y Alemania, infectando diferentes variedades (Tempranillo, Bobal, Pinot Noir, Rèze, Räuschling, Veltliner, Muller-Thurgau, Gewurztraminer, Marsaoui, Roditis, Vertzami, Mavrothiriko, Geisenheim 26, Chardonnay, Pinot Blanc y Riesling).

El método ha sido validado siguiendo la norma EPPO y aplicado para el diagnóstico de material vegetal de campo y vectores de transmisión. El método se comparó *in vitro* e *in silico* con métodos previos publicados. El nuevo protocolo diseñado resultó ser altamente sensible con un límite de detección en material vegetal de 67 copias virales. La repetibilidad y reproducibilidad del método se realizó con el análisis de siete muestras infectadas con GLRaV-1 a una concentración viral baja. Se realizaron nueve réplicas técnicas de cada muestra usando tres termocicladores diferentes (tres réplicas por termociclador) en días diferentes y por dos operadores diferentes. Además, el método es mucho más sensible y específico que los métodos disponibles actualmente y permite la detección y cuantificación absoluta del título viral de GLRaV-1.

4ª SESIÓN

Nematodos

Moderadores

Ramona M. Muñoz Gómez	Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete
Remedios Santiago Merino	Laboratorio de Diagnóstico de Sanidad Vegetal. Junta de Extremadura (Badajoz)



DETECCION DE *Bursaphelenchus arthuri* Y *Aphelenchoides* spp. ASOCIADOS A MALFORMACIONES FOLIARES EN FRESA

Abelleira, A.¹, Agúin, O.¹, Piñón, P.¹, Salinero C.¹

¹Estación Fitopatológica Areeiro-Deputación Pontevedra
(adela.abelleira@depo.es)

En abril del 2023 recibimos en nuestro laboratorio varias muestras procedentes de una plantación de fresa en la que se observaban, entre otros síntomas, malformación de hojas y brotes con acortamiento de estolones. Esta sintomatología podría estar asociada a la presencia de nematodos parásitos foliares del género *Aphelenchoides*, como *A. besseyi*, *A. fragariae* ó *A. ritzemabosi*, patógenos comunes en este cultivo.

Una vez realizadas las extracciones de la muestra se determinó la presencia de ejemplares pertenecientes a los géneros *Aphelenchoides* y *Bursaphelenchus*.

Ambos géneros incluyen mayoritariamente especies micófagas, pero también importantes organismos regulados que provocan considerables pérdidas económicas como *B. xylophilus* y las especies de *Aphelenchoides* citadas anteriormente.

La determinación, a nivel género/especie de los ejemplares detectados, se llevó a cabo utilizando caracteres morfológicos combinados con técnicas moleculares.

Dentro del género *Aphelenchoides* se identificó la especie *Aphelenchoides rotundicaudatus* y *Aphelenchoides* sp.

En el caso del género *Bursaphelenchus* la especie identificada fue *Bursaphelenchus arthuri*, que está clasificada, según caracteres morfológicos y relaciones filogenéticas, en el grupo fungivorus subgrupo 4.

Tanto *A. rotundicaudatus* como *B. arthuri* han sido descritas y aisladas en madera de embalaje principalmente de coníferas y en árboles muertos de *Pinus massoniana* en países del sureste asiático, sin implicación fitopatógena.

Sería necesario comprobar, realizando las oportunas pruebas de patogenicidad, que las especies de nematodos detectadas sean las responsables de los síntomas observados en las plantas de fresa. En la bibliografía consultada, no hay referencias de que ambas especies se hayan encontrado asociadas a este cultivo.

EXTRACCIÓN DE ADN Y PCR A TIEMPO REAL DE *Bursaphelenchus xylophilus* Y *Bursaphelenchus mucronatus*.

Zamora, P., Trapiello, E. y González-Casas, A.

Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Consejería de Medio Ambiente, Vivienda y Ordenación del Territorio, Junta de Castilla y León.

Ext.paula.zamora@jcyll.es

El nematodo de la madera del pino *Bursaphelenchus xylophilus* es el agente causal del decaimiento de los pinos. Es un organismo de cuarentena que se encuentra extendido en Portugal y presente en el territorio español en las Comunidades Autónomas de Extremadura, Galicia y Castilla y León. Este nematodo está sujeto a una serie de controles y análisis anuales para su detección.

La identificación mediante técnicas moleculares de este nematodo se lleva a cabo siguiendo los protocolos descritos en EPPO: PM7/4(4).

El método de extracción empleado está basado en el método descrito por Iwahori et al. 2000. La extracción se lleva a cabo recogiendo varios ejemplares de nematodos sobre un pequeño disco de papel colocado en un tubo Eppendorf. Posteriormente se añaden 50µl de agua, se agita mediante un vórtex y se congela a -20°C durante al menos 30 min. De esta manera, queda preparado el ADN para su posterior análisis. Este método de extracción de ADN fue escogido por ser un método rápido y económico. Hasta la fecha, el método ha sido adecuado aunque se llevarán a cabo más análisis comparando esta extracción con la extracción mediante un kit de extracción de los descritos en PM 7/4(4).

En cuanto a la identificación molecular mediante PCR a Tiempo Real, se emplean dos métodos: el método descrito por François et al., 2007 para la identificación de *Bursaphelenchus xylophilus* y el método basado en Filipiak et al., 2019 para la identificación de *Bursaphelenchus xylophilus* y *Bursaphelenchus mucronatus*. Ambos métodos han resultado eficaces en la detección de *Bursaphelenchus xylophilus* pero dada la frecuente aparición en nuestro territorio de *Bursaphelenchus mucronatus*, el método de Filipiak es más completo. Además, con este método se podría detectar la presencia de una tercera especie, *Bursaphelenchus fraudulentus*, cuya sonda no incluimos por ser una especie que aún no se ha encontrado en Castilla y León y de la cual no se dispone de un control positivo.

ÚLTIMA REVISIÓN DE LOS PROTOCOLOS DE DIAGNÓSTICO PARA *Globodera* spp y *Bursaphelenchus xylophilus*

Robertson, L.¹, Arcos, S.C.², González, R.², Navas, A.²

¹Laboratorio de Nematología, dpto. Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria - CSIC. (robertson.lee@inia.csic.es).

²Laboratorio Nacional de Referencia de Nematodos y Artrópodos de interés agrícola y forestal, MNCN-CSIC.

La EPPO está en el proceso de revisar las fichas técnicas sobre las plagas recomendadas para su regulación. En el año 2022 se publicaron nuevas fichas técnicas para *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*, y un protocolo de diagnóstico revisado. En este protocolo se presentan diferentes pruebas de detección e identificación que pueden ser utilizado dependiendo de las circunstancias de cada país. La presencia de *G. tabacum* en algunas regiones de la UE puede provocar complicaciones en el diagnóstico correcto. Estos problemas serán presentados y discutidos.

Bursaphelenchus xylophilus puede estar presente en plantas coníferas para plantar, ramas cortadas, madera, corteza aislada y astillas/virutas de madera, pero no en acículas, conos o semillas. Como los síntomas provocados por su presencia no son específicos, se deben tomar muestras de madera importada y de coníferas en pie. Este año la EPPO también publicó un protocolo de diagnóstico revisado para *Bursaphelenchus xylophilus*. Se presentan las mejoras y deficiencias.

PRIMERA DETECCIÓN EN ESPAÑA DE *Meloidogyne chitwoodi* EN TUBÉRCULOS DE PATATA

Alonso-Herrero, J., Salinas, L. y Palomo, J.L.

Centro Regional de Diagnóstico. Junta de Castilla y León (Aldearrubia, Salamanca) (jluis.palomo@jcyl.es).

Dentro de los controles oficiales que se realizan el Centro Regional de Diagnóstico (Salamanca) en tubérculos de patata de siembra y consumo, se analizan dos especies del género *Meloidogyne* (*M. chitwoodi* y *M. fallax*), plagas cuarentenarias incluidas en el Anexo II del Reglamento 2019/2072 de la Comisión Europea. El principal síntoma que producen ambas especies en los tubérculos de patata es la formación de abultamientos o agallas en la superficie de los tubérculos, debido a la hipertrofia de las células corticales.

En octubre de 2020 se recibió una muestra de 200 tubérculos de patata de consumo (339/C128) procedente de Santa Croya de Tera (Zamora). Al procesar los tubérculos, se observó la presencia de abultamientos en la superficie. Con ayuda de una lupa binocular y un microescalpelo se extrajeron hembras en la zona subcortical, que se identificaron morfológicamente como pertenecientes al género *Meloidogyne*. La identificación morfológica a nivel de especie es compleja y se basa en el patrón perineal de las hembras, que en el caso de *M. chitwoodi* tiene una forma ovoide, arco dorsal bajo, alas laterales ausentes y área anal con estrías rugosas. Los patrones obtenidos se ajustaban a este modelo, sin embargo, existe una variabilidad intraespecífica que hace imprescindible complementar esta identificación con pruebas moleculares.

En primer lugar, se realizó una multiplex PCR basada en el protocolo de Zijlstra (1997) que permite diferenciar las especies *M. hapla*, *M. incognita*, *M. fallax* y *M. chitwoodi* mediante la diferencia de tamaño de las bandas de amplificación obtenidas. En la muestra analizada se obtuvo una banda de amplificación con un tamaño de aproximadamente 520 pares de bases, que podría corresponder a las especies *M. fallax* o *M. chitwoodi* (517 y 525 pb respectivamente). Para diferenciarlas se aplicó un enzima de restricción *RsaI*, que produce la digestión en *M. fallax* (416 + 101 pb) y no en *M. chitwoodi*. En el caso de la muestra 339/C128 no hubo digestión y se obtuvo una sola banda de 520 pares de bases, lo que confirmó que se trataba de *M. chitwoodi*.

Para completar la identificación se realizó una qPCR con el protocolo de Zijlstra y Van Hoof (2006), que incluye unos iniciadores comunes a *M. fallax* y *M. chitwoodi* y una sonda específica para cada una. Se obtuvo amplificación con la sonda correspondiente a *M. chitwoodi*.

La muestra se remitió al Laboratorio Nacional de Referencia de Nemátodos Fitopatógenos, que confirmó la identificación utilizando el protocolo de PCR basado en regiones específicas IGS descrito por Wishart *et al.* (2002).

Se trata de la primera vez que se detecta *Meloidogyne chitwoodi* en España.

DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DEL NEMATODO DEL ARROZ *Meloidogyne graminicola*

Robertson, L.¹, Arcos, S.C.², González, R.², Navas, A.²

¹Laboratorio de Nematología, dpto. Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria - CSIC. (robertson.lee@inia.csic.es).

²Laboratorio Nacional de Referencia de Nematodos y Artrópodos de interés agrícola y forestal, MNCN-CSIC.

Meloidogyne graminicola (Nematoda: Meloidogynidae - nematodo agallador de la raíz del arroz) se describió por primera vez en 1965 en pastos y avena en Luisiana (EE. UU.). Desde entonces, se ha descubierto que ataca principalmente cultivos de arroz de regadío en Asia y partes de América y África. En 2016 se detectó por primera vez *M. graminicola* en la región de la EPPO en varios arrozales del norte de Italia (Lombardi y Pimonte). Por ello la EPPO decidió añadir este nematodo a la lista de alerta.

El principal huésped económicamente importante de *M. graminicola* es el arroz (*Oryza sativa*), pero este nematodo tiene una amplia gama de huéspedes de más de 98 plantas hospedantes pertenecientes a Poaceae y otras familias de plantas. El nematodo se ha encontrado asociado con otros cereales y pastos, incluidas malezas que están comúnmente presentes en los campos de arroz.

A principios de octubre de 2023, los laboratorios nacionales de referencia de nematodos de la UE fueron invitados a asistir a una sesión de formación sobre la identificación morfológica y molecular de este nematodo en ILVO Bélgica. Los resultados y conclusiones de esta formación serán presentados y discutidos.

5ª SESIÓN

Hongos y Oomicetos I

Moderadores

Manuel Avilés Guerrero

ETSIA. Universidad de Sevilla (Sevilla)

Diego Olmo García

Laboratorio Oficial de Sanidad Vegetal de las Islas
Baleares (Palma de Mallorca)



MULTIPLEX qPCR PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN SIMULTÁNEA DE HONGOS DE LA FAMILIA *Botryosphaeriaceae* EN ALMENDRO

Romero-Cuadrado L¹., Capote N.¹

¹ Área de Protección Vegetal Sostenible, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica (IFAPA) Centro Las Torres, Alcalá del Río, Sevilla.

El almendro es un cultivo de alta importancia económica en España. Nuestro país es actualmente el tercer productor de almendra a nivel mundial por detrás de EEUU y Australia. La intensificación del cultivo en las últimas décadas y el cambio climático están provocando un aumento de enfermedades ocasionados por hongos, entre las que se encuentran las enfermedades de madera ocasionadas por hongos de la familia *Botryosphaeriaceae*. Son hongos aéreos que infectan a través de heridas naturales o de poda y producen infecciones latentes asintomáticas. La patogenicidad se desarrolla cuando la planta infectada se somete a algún tipo de estrés. Los síntomas consisten en marchitamiento, abundante gomosis, necrosis de tejidos internos y muerte ocasional del árbol. Las principales fuentes de inóculo son cultivos aledaños huéspedes de estos hongos y el material de vivero asintomático. En este trabajo hemos desarrollado un protocolo de PCR en tiempo real en múltiplex para la detección y cuantificación simultánea de *Neofusicoccum parvum*, *Botryosphaeria dothidea* y cualquier especie de la familia *Botryosphaeriaceae* en almendro. Para ello, se diseñaron cebadores y sondas TaqMan específicas basados en los genes del factor de elongación de la traducción 1 alfa (*tef1*) y β -tubulina (*tub2*). El protocolo de qPCR es altamente sensible con un límite de detección de 10 fg de ADN genómico de cada especie o tipo, con alto coeficiente de correlación (R^2) y eficiencia de amplificación entre 90 y 120 %. También es altamente específico, con la limitación de que detecta *Neofusicoccum ribis*, no descrito como patógeno de almendro. La alta sensibilidad alcanzada con esta técnica permite la detección de los hongos de esta familia en material vegetal, incluso antes de la aparición de los primeros síntomas. Por lo tanto, esta herramienta de diagnóstico podría aplicarse para la detección preventiva de hongos de la familia *Botryosphaeriaceae* en material vegetal de vivero o árboles jóvenes recientemente plantados, evitando la introducción y dispersión de estos patógenos en los campos de producción de almendra. Asimismo, podría aplicarse para la detección de estos patógenos en otros cultivos leñosos y árboles forestales.

DECAIMIENTO DEL KIWI EN LA COMUNIDAD VALENCIANA

Pérez-Sierra, A., Salas, C., Khalil, T., Mira, J., Vicent A.

Unidad de Micología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia.
(perez_anasie@gva.es)

El kiwi (*Actinidia deliciosa*) es uno de los cultivos emergentes y en expansión en la Comunidad Valenciana. Actualmente este cultivo ocupa unas 500 ha y la variedad principalmente utilizada es Hayward de pulpa verde, una de las más cultivadas a nivel mundial. También se cultiva la variedad 'Dori' de pulpa amarilla injertada sobre 'Hayward'.

En 2020 se notificaron los primeros síntomas de decaimiento en la variedad Dori en Valencia y recientemente se detectado también en la variedad Hayward. Los síntomas comienzan con un amarilleamiento o secado de hojas, un clareo en la copa, un tamaño reducido de los frutos, muerte regresiva de ramas, marchitez y finalmente el colapso de la planta afectada. Este colapso puede ocurrir de en pocas semanas, especialmente en la época de máxima evapotranspiración. Inicialmente se observan los síntomas más severos en una planta en particular, y en la misma línea de plantación se observan los síntomas iniciales en las plantas adyacentes y se va extendiendo a lo largo y a lo ancho, creando un rodal de árboles afectados. En las plantas afectadas se observa una carencia de raíces absorbentes, hipertrofia de raíces, un descortezado de las raíces más gruesas y raíces con aspecto de 'cola de rata'.

Estos síntomas son similares a los descritos en kiwi en Italia y denominados como Kiwifruit Vine Decline Syndrome (KVDS) o 'moria del kiwi'. En este trabajo se presentarán los resultados obtenidos tras los muestreos iniciales relativos a la caracterización del síndrome y del procesado de las muestras de las parcelas afectadas.

PCR Multiplex en tiempo real para detección de hongos patógenos en cítricos

Aguilar, M.I.¹

¹ Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería. AGAPA. Junta de Andalucía (misabel.aguilar@juntadeandalucia.es)

Para la detección de varios patógenos de cuarentena de cítricos en el laboratorio habitualmente usamos diversas pruebas PCR, ya sean de tipo convencional, es el caso de la detección de *Elsinoë fawcettii* y *E. australis*, y también algunas en tiempo real, como en la detección de *Phyllosticta citricarpa*.

Estos métodos están siendo realmente efectivos hasta el momento, aunque en los casos en los que se solicita la detección de varios de estos patógenos en una misma muestra, se dedica mucho tiempo al análisis por usarse distintos métodos para cada uno.

A partir de 2019, algunos autores publicaron un nuevo método PCR Multiplex en tiempo real para la detección de *Elsinoë fawcettii*, *E. Australis* y *Pseudocercospora angolensis*, y finalmente lo desarrollaron y validaron para su detección también junto a *Phyllosticta citricarpa*. Este método podría reducir mucho los tiempos necesarios para el análisis de cada patógeno, además de ser útil para *P. Angolensis*, que hasta el momento no usábamos ningún método de PCR.

En nuestro laboratorio hemos iniciado la verificación de este método en nuestras condiciones. Hasta el momento la PCR Multiplex parece ofrecer buenos resultados detectando cada uno de los patógenos, aunque es necesario tener en cuenta muchos detalles al evaluar los resultados en este tipo de PCR que pueden resultar complejos y requieren estudios más profundos.

USO DE IMÁGENES HIPERESPECTRALES PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES EN *Agrostis stolonifera* MEDIANTE ALGORITMOS DE MACHINE LEARNING

Borrero, C.¹, Castro-Valdecantos, P.¹, Ordóñez-Martín J.¹, Egea G.², Pérez-Ruiz, M.², Avilés, M.¹

¹ Departamento de Agronomía, ETSIA, Universidad de Sevilla.
(cborrero@us.es) (Arial 12, espaciado sencillo).

² Departamento de Ingeniería Aeroespacial y Mecánica de Fluidos, ETSIA, Universidad de Sevilla.

La especie cespitosa *Agrostis stolonifera* es ampliamente utilizada en los greens de los campos de golf. El buen manejo sanitario de estas superficies exige una temprana y precisa detección de las posibles enfermedades que pueden afectarle. Dos de esas enfermedades son la mancha dólar causada por *Clariireedia* spp. y la quemazón y podredumbre radical causada por *Pythium aphanidermatum*. Las tecnologías, como la información hiperespectral y la inteligencia artificial, ofrecen oportunidades para mejorar la rapidez en la detección y el diagnóstico de enfermedades en plantas. Los modelos de aprendizaje automático o “machine learning” presentan una notable capacidad para analizar grandes cantidades de datos e identificar patrones sutiles que podrían indicar la presencia de una enfermedad. Estos modelos se entrenan utilizando conjuntos de datos que contienen información relevante sobre las características y síntomas de las enfermedades. Al aplicar estos modelos a nuevos datos, como imágenes, pueden realizar una clasificación precisa y rápida, identificando posibles casos de enfermedad en etapas tempranas. En este trabajo, nos centramos en la identificación de las enfermedades causadas por los patógenos *Clariireedia* sp. y *P. aphanidermatum* en *A. stolonifera* mediante el uso de modelos de aprendizaje automático, incluyendo Artificial Neural Network (ANN), Support Vector Machine (SVM), Logistic Regression Multinomial (MLR), Naïve Bayes (NB), K-nearest neighbour (KNN) y Decision Tree (DT). Para llevar a cabo este estudio, se utilizaron macetas con césped de *A. stolonifera* de dos ensayos en cámara de cultivo, uno inoculado con *Clariireedia* sp. y el otro con *P. aphanidermatum* (80 macetas inoculadas y 20 testigo en cada ensayo). Se tomaron medidas semanales utilizando una cámara hiperespectral Headwall Nano-Hyperspec que abarcaba un rango espectral de 397 a 1003 nm. Las imágenes se obtuvieron colocando las plantas sobre una cinta transportadora a velocidad constante, complementada con iluminación artificial. Se utilizó el lenguaje de programación Python para el análisis y procesado de datos e imágenes. El modelo ANN mostró los resultados más destacados, seguido por el modelo KNN, mientras que los modelos MLR y SVM mostraron un rendimiento inferior. Una de las claves del buen funcionamiento de ANN y KNN ha sido su capacidad para interpretar relaciones no lineales y complejidades en los datos de manera efectiva. Sin embargo, es importante reconocer que ciertos factores específicos del experimento, como el tamaño, la forma de la maceta o la presencia de otros elementos, pueden afectar a la precisión de los modelos. En conclusión, los modelos de aprendizaje automático han demostrado ser precisos y efectivos en la identificación y diferenciación de ambas enfermedades.

6ª SESIÓN

Hongos y Oomicetos II

Moderadores

Nieves Capote Mainez

IFAPA Las Torres (Alcalá del Río, Sevilla)

María Isabel Aguilar Pérez

Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería



PODREDUMBRE DE CUELLO Y RAÍCES EN GRANADO CAUSADO POR *Phytophthora* spp.

Pérez-Sierra, A.¹, Salas, C.¹, Mira, J.¹, Bartual, J.², Vicent, A.¹

¹Unidad de Micología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia. (perez_anasie@gva.es)

²Estación Experimental Agraria de Elche, Elche (Alicante).

En julio de 2023 se observaron síntomas de decaimiento y muerte de plantas en una plantación joven de granado (*Punica granatum*) en la provincia de Valencia. Los síntomas observados fueron amarilleamiento generalizado de las hojas, muerte regresiva de ramas, y finalmente el colapso de las plantas afectadas. En las bases de los troncos se observó la pudrición de la zona del cuello y lesiones que se extendían desde las raíces de forma ascendente hacia la base del tronco. Se tomaron muestras de suelo, de raíces y de las bases de los troncos para realizar aislamientos en el laboratorio.

Se realizaron aislamientos de las lesiones observadas en las raíces y base de los troncos en medio PARPH para oomicetos. Para los aislamientos de las muestras de suelo se utilizaron manzanas Granny Smith como trampas vegetales.

En todos los casos se aislaron de forma consistente colonias de *Phytophthora*. Se obtuvieron cultivos puros y se extrajo el ADN de dichos cultivos. Para su identificación, se amplificó y secuenció la región ITS con los cebadores ITS4 e ITS6. Dos especies de *Phytophthora* se identificaron en las muestras de suelo (*P. nicotianae* y *P. palmivora*) y solamente una de ellas de las raíces y lesiones en el tronco (*P. palmivora*).

Phytophthora palmivora ha sido detectada en los últimos años en plantaciones de granado en otros países como Italia y Turquía causando pudrición de cuello y raíces. En España, *P. palmivora* también se ha detectado, principalmente en plantas ornamentales en viveros o en jardines, o en cultivos como el algodón. Esta podría ser la primera cita de su presencia en un cultivo leñoso en campo en España.

Para comprobar los postulados de Koch, plantones de dos años granado fueron inoculados con *P. palmivora*. Los resultados serán presentados en esta reunión.

PRIMERA DETECCIÓN EN ESPAÑA DE *Sclerotinia sclerotiorum* CAUSANDO SECA Y PUDRICIÓN DE BROTES DE VID

Perelló, A.¹, Olmo, D.², Busquets, A.^{3,4}, Romero-Munar, A., Quetglas B. M.^{3,5}, Gost, P. A.^{3,5}, Berbegal, M.⁶, Armengol, J.⁶, Cabot, C.³, Gomila, M.^{3,4}, Bosch, R.^{3,4}, Vadell, J.³, Cifre, J.⁵ y Poschenrieder, C.⁷

1 UCA-FICA, Pontificia Universidad Católica Argentina, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias Av. Alicia Moreau de Justo 1300, CABA, Buenos Aires, Argentina.

2 Laboratorio Oficial de Sanidad Vegetal de las Islas Baleares (LOSVIB)- Instituto de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera de Las Illes Balears (IRFAP), Govern Balear, 07009 Palma, Spain dolmo@irfap.es

3 Department of Biology, 4 IMEDEA (CSIC-UIB), 5 Department of Engineering, Universitat de les Illes Balears, 07122 Palma, Spain.

6 Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camí de Vera S/N, 46022 Valencia, Spain. 7 Department of Plant Physiology, Universitat Autònoma de Barcelona, 08183 Cerdanyola del Vallès, Barcelona, Spain

En abril de 2021, numerosas cepas de vid (*Vitis vinifera* L.) de la variedad autóctona mallorquina 'Callet' cultivadas en un viñedo ubicado en Pollença (noreste de la isla de Mallorca) mostraron síntomas severos de seca y pudrición de brotes, con una incidencia del 70%. Los síntomas consistían en chancros alargados, rodeados de tejidos más oscuros con pudrición, que se desarrollaron en la base o alrededor de los nudos medios del brote, al efectuar cortes transversales se observaba necrosis interna de los tejidos y no presentaban inicialmente fructificaciones fúngicas, pero tras realizar cámara húmeda se desarrollaba en los primeros días micelio blanco, y posteriormente a las 2-3 semanas, se observó el también desarrollo de esclerocios. Se realizaron aislamientos en PDA-s obteniéndose consistentemente aislados de hongos que produjeron micelio blanco y esclerocios negros esféricos a alargados (de 2 a 10 mm de diámetro), que se correspondían con la descripción morfológica de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Se extrajo el ADN genómico de 2 aislados (UIB 118-26 y UIB 129-41) y se amplificó la región espaciadora transcrita interna (ITS) del ADN ribosómico y las regiones de los genes β -tubulina (BTUB) y calmodulina (CAL) utilizando los cebadores ITS1F-ITS4, Bt-2a/Bt. -2b y CAL228F/CAL737R, respectivamente. Los amplicones se secuenciaron y las secuencias se depositaron en la base de datos de GenBank con los códigos MZ604647 y MZ604648 para ITS, OK634402 y OK634403 para BTUB y OK634404 y OK634405 para CAL. El análisis BLASTn mostró que los aislados eran >99 % (ITS, BTUB y CAL) idénticos a secuencias correspondientes a *S. sclerotiorum* (KF859933, CP017815 y KF871381, respectivamente). Los ensayos de patogenicidad se realizaron utilizando ocho vides de un año de edad cv. Cabernet Sauvignon. Se inocularon brotes verdes nuevos y viejos insertando discos de micelio de 6 mm tomado de cultivos en crecimiento activo en PDA en cortes realizados en la base y en la parte distal de cada brote con un bisturí estéril con un total de ocho puntos de inoculación por planta. Las heridas inoculadas se sellaron con cinta Parafilm para evitar deshidratación. Las plantas inoculadas y un número

igual de plantas heridas pero no inoculadas (controles negativos) se mantuvieron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 h en recipientes de plástico para asegurando una humedad relativa alta ($>90\%$). Tras 5 días, la infección rodeó y pudrió los nuevos brotes verdes, mientras que los brotes más viejos, parcialmente lignificados, desarrollaron una lesión marrón larga localizada que alcanzó hasta 16 cm de longitud. Debido a la pudrición de la parte basal del pecíolo, las hojas se marchitaron y murieron, desprendiéndose fácilmente del tallo. En etapas avanzadas, 7 días después de la infección, las ramas morían y caían dejando las hojas adheridas. Se realizaron con éxito reaislamientos de brotes enfermos en PDA para cumplir los postulados de Koch. *S. sclerotiorum* se había reportado anteriormente en vid como causante del tizón de los brotes en Chile (Latorre y Guerrero, 2001), Corea (Jong-Han et al. 2009), California-EE.UU. (Boland y Hall, 1994) y Australia (Hall et al. 2002). Aunque la presencia de *S.sclerotiorum* en vid se había citado como endófito en un trabajo de González y Tello (2011), hasta nuestro conocimiento este es el primer reporte de la aparición de *S. sclerotiorum* como patógeno de la vid en España causando chancro y pudrición del brote.

Grupo nº 3 (1: Nematodos, 2: Bacterias y fitoplasmas 3: **Hongos y Oomicetos**, 4: Virus y viroides, 5: Temas generales)

DETECCIÓN DE *VERTICILLIUM DAHLIAE* A PARTIR DE SUELO

Lerma, M. L.; Castillo, P.; Muñoz, R. M.

¹Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP)
(rmg.itap@dipualba.es)

Verticillium dahliae es un hongo de suelo que tiene un amplio rango de especies susceptibles, tanto cultivadas como silvestres, y entre las que se encuentran más de 400 especies de plantas herbáceas o leñosas. El patógeno causa la enfermedad denominada verticilosis, causando marchitez vascular, secado de ramas e incluso de plantas enteras, produciendo importantes pérdidas económicas.

En nuestro servicio de diagnóstico ha sido detectado en los cultivos de aguacate, albaricoque, almendro, girasol, patata, pistacho y olivo.

El hongo sobrevive en el suelo, de ahí que el servicio ha recibido muchas consultas sobre la detección de este hongo a partir de muestras de suelo, sobre todo para la plantación de especies leñosas susceptibles de ser atacadas por verticilosis.

Por ello, en nuestro laboratorio se buscó en la bibliografía un método para detectar el hongo en el suelo, permitiendo estimar cuantitativamente la densidad de inóculo en el suelo y comprobando la viabilidad de las colonias de *Verticillium* detectadas.

La identidad de aislados obtenidos fue comprobada mediante secuenciación, de tal forma que además de *Verticillium dahliae*, se han detectado otras especies del género *Verticillium* que, según la bibliografía, no llegarían a producir daños en los cultivos leñosos que se pretenden implantar.

Las distintas especies de *Verticillium* detectadas han permitido comprobar la falta de especificidad de algunos protocolos de diagnóstico de *Verticillium dahliae*, encontrados en la bibliografía y basados en PCR a tiempo real.

En el presente trabajo se expondrá la problemática asociada a la detección de *Verticillium dahliae* a partir del suelo.

AMARILLOS Y DECAIMIENTOS DE *Celtis australis***¿ASOCIADOS A HONGOS Y FITOPLASMAS?**

Salvà, M.¹, Pedrosa, A.¹, Nieto, J. Sabaté², A.³, Olmo D.³,

1. Empresa de Transformación Agraria (TRAGSA). Delegación de Baleraes
2. Institut de Recerca i Tecnologies Agroalimentàries (IRTA). Programa de Protección Vegetal Sostenible, Cabrils (Barcelona) 08340.
3. Laboratorio Oficial de Sanidad Vegetal de las Islas Baleares (LOSVIB)- Instituto de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera de Las Illes Balears (IRFAP), Govern Balear, 07009 Palma, Spain
dolmo@irfap.es

El almez o aligonero, *Celtis australis* L., es originario de la región mediterránea donde es muy común tanto en el medio natural como formando parte del arbolado viario en numerosas ciudades españolas. En general, es una especie que se adapta bien estos entornos y que no suele padecer plagas o enfermedades relevantes, sin embargo, desde hace unos 10-15 años se está observando en Mallorca, especialmente en los municipios de Palma y Calvià, amarillos y decaimientos de numerosos ejemplares, muy frecuentemente en alineaciones y ocasionalmente en ejemplares aislados.

Los síntomas suelen iniciarse (Fase 1) en varias zonas de la copa, mostrando brotes con entrenudos cortos, hojas extremadamente pequeñas, amarillentas en toda su superficie o en mosaicos (verde-amarillo), y deformadas, mostrando el ápice extremadamente caudado. Con el paso del tiempo (años), se manifiesta la fase más avanzada (Fase 2) de los síntomas cuando algunos ejemplares afectados por los síntomas iniciales comienzan a manifestar una defoliación, regresión y seca de los brotes afectados, especialmente los de las partes más altas.

No obstante, dependiendo de la cantidad de brotes que estuvieran afectados en la fase 1, algunos ejemplares, habitualmente los de mayor porte y edad, parecen recuperarse y vuelven a mostrar brotaciones normales los años posteriores y no se presenta la fase 2 de los síntomas.

Dado que la presencia de fitoplasmas en *Celtis australis* con síntomas similares se había citado en varios países mediterráneos (Bertaccini *et al.*, 1996; Torres *et al.*, 2000), en otoño de 2018, se analizaron por qPCR (Hren *et al.*, 2007 ; Christensen *et al.*, 2004) 16 muestras sintomáticas del arbolado urbano de Palma, obteniéndose resultado positivo en 15 de ellas. Sin embargo, en otoño de 2019 en 50 muestras (32 sintomáticas y 18 asintomáticas) no se detectaron en ninguna, no pudiéndose establecer una asociación clara con la problemática.

Por otro lado, entre 2019 y 2020 se descubrió un nuevo agente patógeno en los árboles que mostraban un estado de decaimiento (fase 2), se trata del hongo Botryosphaerial *Sardiniella urbana*, recientemente descrito ocasionando decaimientos de *Celtis australis* en Cerdeña (Linaldeddu *et al.*,

2016). En Mallorca se ha detectado en numerosos almeces desde jóvenes a árboles singulares de gran porte y se ha comprobado su patogenicidad completando los postulados de Koch (Pintos et al., 2021).

En el momento de presentar este trabajo se plantean dudas, cómo queda patente en su título. Dudamos acerca de si hay relación entre ambos organismos con la enfermedad, o en alguna de sus fases, o bien, si son dos procesos independientes. Por un lado, unos síntomas iniciales que no recuerdan a los que causa un hongo de la familia *Botryosphaeriaceae* y por otro lado los resultados muy erráticos en las detecciones de fitoplasmas, no ayudan a resolver estas dudas. De este modo, lanzar una hipótesis sobre del proceso de la enfermedad y su etiología sin evidencias científicas sería arriesgado.

No obstante, la alta prevalencia en mismas alineaciones (mismos lotes de material vegetal) sí parece indicar que la problemática podría haberse iniciado en los viveros de origen.

7ª SESIÓN

Hongos y Oomicetos III

Moderadores

Ana Pérez Sierra	Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias IVIA (Moncada, Valencia)
Juana Isabel Páez	Laboratorio de Control Oficial Agroalimentario y Agroganadero (Sevilla)



ESPECIES DE *Phytophthora* EN LOS CULTIVOS DE FRUTOS ROJOS EN HUELVA

Pastrana, A. M.¹, Borrero, C.¹, Ordóñez, J.¹, Páez, J. I.², Orta, S.³, Avilés, M.¹

¹Departamento de Agronomía, Universidad de Sevilla (apastrana@us.es)

²Lab.de Control Oficial Agroal. Y Agrog. Sevilla, AGAPA. Junta de Andalucía.

³Lab.de Control Oficial Agroal. Y Agrog. Huelva, AGAPA. Junta de Andalucía.

A nivel mundial, varios oomicetos del género *Phytophthora* causan enfermedades de alto impacto económico y ambiental en viveros, campos de producción y ecosistemas naturales. En la región productora de frutos rojos de Huelva, se observó, en los últimos años, una disminución en el rendimiento de los cultivos de fresa, frambuesa y arándano debido a la escasa disponibilidad de desinfectantes de suelo. Uno de los primeros oomicetos en resurgir después de la retirada del bromuro de metilo fue *P. cactorum*, bien conocido en esta región por ocasionar graves pérdidas en el cultivo de la fresa. En 2019, expertos de los laboratorios de Huelva y Sevilla identificaron a *P. citrícola complex*, *P. rosacearum* y *P. rubi* como patógenos del cultivo de frambuesa, capaces de causar pudrición de raíces y marchitez y muerte de plantas. Además, durante este estudio, se ha identificado a *P. cinnamomi* como la causa del amarilleo o enrojecimiento de las hojas y eventual defoliación en las plantas de arándano. Otros síntomas graves de la enfermedad en arándano incluyen el retraso en el crecimiento de las plantas debido a la pudrición y la restricción del sistema radicular, así como la coloración de roja a negra en algunas coronas y la muerte de las plantas.

El objetivo principal de este estudio fue llevar a cabo pruebas de patogenicidad utilizando las diferentes especies de *Phytophthora* en diversas variedades de frambuesa, arándano y fresa para determinar posibles hospedadores susceptibles en la zona. Los resultados de las pruebas de patogenicidad revelaron que ambas de las variedades de fresa usadas fueron susceptibles a los aislados de *P. citrícola complex* y *P. rosacearum* recuperados de plantas de frambuesa sintomáticas. Sin embargo, *P. rubi*, también recuperado de frambuesa, solo causó síntomas de enfermedad en plantas de frambuesa y no en plantas de fresa ni de arándano. Además, encontramos que las plantas de arándano fueron resistentes a todas las especies de *Phytophthora* probadas, excepto al aislado de *P. cinnamomi* recuperado de una planta de arándano sintomática, el cual pudo causar enfermedad en plantas de la variedad de arándano 'Ventura'. Curiosamente, *P. cinnamomi* fue la única especie de *Phytophthora* con la capacidad de causar enfermedad en los tres cultivos estudiados en este ensayo.

Por lo tanto, este estudio proporciona recomendaciones esenciales sobre los posibles riesgos asociados con el uso de otros tipos de bayas como cultivos rotativos y enfatiza la necesidad de estrategias de manejo efectivas para mitigar las pérdidas de cosecha. Esto es especialmente crítico dada la limitada disponibilidad de alternativas de desinfección del suelo en España.

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LOS AISLADOS DE NEOPESTALOTIOPSIS SPP. QUE AFECTAN AL CULTIVO DE LA FRESA EN ESPAÑA.

López, P., Pastrana, A. M., Borrero, C. y Avilés, M.

Departamento de Agronomía. ETSIA. Universidad de Sevilla (plopez2@us.es).

Neopestalotiopsis spp. es un patógeno emergente que causa la enfermedad conocida como mancha foliar y podredumbre de raíz y corona en fresa. Esta enfermedad ha sido citada en los últimos años en los principales países productores de fresa. En España, fue descrita la podredumbre de raíz y corona por primera vez en 2016. Sin embargo, no es hasta la campaña 2021-2022 cuando se ha observado un aumento en la gravedad de la enfermedad en Huelva. Esta tendencia también se ha observado en otras zonas productoras como Florida (EE. UU.), donde ha registrado un aumento de agresividad y variaciones genéticas en los aislamientos actuales respecto a los anteriormente presentes.

Al ser una enfermedad reciente en España, todavía hay pocos estudios sobre su etiología y control. Por tanto, este estudio trata de caracterizar la población genética de *Neopestalotiopsis* spp. en el cultivo de la fresa en nuestro país. Así, se llevó a cabo una colección de 150 aislados del género *Neopestalotiopsis* spp. procedentes de diferentes municipios onubenses y viveros de altura. Los aislados se secuenciaron usando las regiones genéticas espaciador transcrito interno (ITS), β -tubulina (TUB) y factor de elongación (TEF). Tras los consiguientes análisis filogenéticos, los aislados se dividieron en tres clados filogenéticamente distintos: *Neopestalotiopsis rosae* (Clado I), *Neopestalotiopsis* sp. (Clado II) y un nuevo grupo no referenciado anteriormente (Clado III).

Una vez diferenciados los tres clados filogenéticos, nos propusimos comprobar si difieren en su patogenicidad sobre diferentes cultivares de fresa. Y si existiesen diferencias el siguiente paso sería desarrollar técnicas de diagnóstico que permitan diferenciar estos grupos.

CARACTERIZACIÓN PATOGENICA DE LOS AISLADOS DE *Neopestalotiopsis* spp. QUE AFECTAN AL CULTIVO DE LA FRESA EN ESPAÑA

López, P., Pastrana, A., Borrero, C., Avilés, M.

Departamento de Agronomía, ETSIA, Universidad de Sevilla. (aviles@us.es)

Desde que se reportara el primer caso de la enfermedad podredumbre de corona y raíz en plantas de fresa por *Neopestalotiopsis* spp. en la provincia de Huelva en 2016, hemos observado como su incidencia y prevalencia ha ido en aumento, especialmente en las tres últimas campañas. Más recientemente también hemos aislado *Neopestalotiopsis* spp. de manchas foliares tanto de plantas de viveros como de los campos de producción de fruta en Huelva. Así, se distinguen dos tipos de síndromes: i) podredumbre de corona y raíz, oscurecimiento de las raíces y lesiones necróticas de color marrón anaranjado visibles al cortar las coronas, lo cual contribuye al enanismo y al mal establecimiento tras el trasplante y ii) mancha foliar, lesiones de diferente tamaño y color desde púrpuras a bronceadas con bordes más oscuros y de forma irregular; las cuales crecen y eventualmente se cubren de numerosos acérvulos. Tras el estudio filogenético de más de 150 aislados (tanto procedentes de plantas de viveros como de los campos de producción de fruta de Huelva), obtenidos durante las tres últimas campañas. Hemos conseguido separar los aislados en tres clados filogenéticos: Clado I que incluye a aislados de *Neopestalotiopsis rosae*, Clado II que incluye a uno de los aislados descritos como una posible nueva especie en Florida (EEUU) más agresiva en hojas y frutos que los aislados de *N. rosae* precedentes, y Clado III separado de los dos clados anteriores. En nuestros ensayos con inoculación a coronas en el cultivar “Palmeritas” todos los clados resultaron igual de agresivos. En cambio, en inoculación foliar sobre el mismo cultivar la agresividad fue creciente en el siguiente orden: Clado III, Clado I y Clado II. En ensayos con inoculación foliar sobre los cultivares “Rociera” y “Plared 15105” sólo un aislado del Clado II resultó patogénico. Estos resultados vienen a indicar que la población de aislados de *Neopestalotiopsis* spp. en España es patogénicamente diversa. Siendo por tanto necesario ir más allá del diagnóstico basado en la morfología del género para evaluar la importancia fitosanitaria de los distintos brotes. Además, este conocimiento es esencial para los programas de obtención de cultivares resistentes.

PRIMERA DETECCIÓN EN ESPAÑA DE *Diaporthe vexans* en berenjena

Aguilar, M.I.¹

¹ Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería. AGAPA. Junta de Andalucía (misabel.aguilar@juntadeandalucia.es)

A final del año 2022, en el Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería, se detectó el hongo *Diaporthe* sp. (*Phomopsis* sp.) en una muestra de berenjena cultivada bajo invernadero. El Laboratorio de referencia de hongos confirmó la sospecha de que se trata de *Diaporthe vexans*, siendo su primera detección en España y una de las primeras en Europa.

Se analizó una muestra de plantas injertadas, recibida como consulta, cuyos síntomas fueron la podredumbre del tallo en los primeros 10 cm de su base, a veces sobre el punto de injerto, debilitamiento y marchitez. Por la descripción aportada por el técnico y los síntomas observados en el propio laboratorio no se conocía esta enfermedad asociada a berenjena hasta el momento en nuestra zona.

Se realizaron siembras de tejidos dañados en medios de cultivo y se colocó parte de tallo afectado en cámara húmeda. También se realizaron trampas vegetales de raíces y sustrato y siembra en medios de cultivo de tejidos dañados del tallo en los que se descartó *Phytophthora* sp.

Se aisló consistentemente el mismo hongo tanto obtenido en medios de cultivo como en las cámaras húmedas. Las colonias presentaban un color inicialmente blanco del micelio en medio PDA. También se desarrollaron picnidios que sirvieron para la identificación morfológica.

Con las observaciones de síntomas y las características morfológicas del hongo detectado consistentemente pudimos encuadrarlo en el género *Diaporthe*. Por todo esto y al ser detectado en berenjena además, se sospechó inicialmente de *Diaporthe vexans* (*Phomopsis vexans*). Para poder confirmarlo, o en caso de ser diferente especie, determinarla correctamente, se precisó una identificación molecular que se realizó en el Laboratorio de referencia de Hongos.

¿QUÉ LES PASA A LOS CIPRESES? DETECCIONES Y DIAGNÓSTICOS DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DE CUPRESÁCEAS EN BALEARES DURANTE LOS ÚLTIMOS 22 AÑOS.

Olmo, D., Nieto, A., Borrás, D.

Laboratorio Oficial de Sanidad Vegetal de las Islas Baleares (LOSVIB)-
Instituto de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera de Las Illes
Balears (IRFAP), Govern Balear, 07009 Palma, Spain dolmo@irfap.es

En el Laboratorio Oficial de Sanidad Vegetal de las Islas Baleares (LOSVIB) se atienden frecuentemente consultas sobre plantas ornamentales o del ámbito forestal, entre ellas un grupo muy frecuente son las especies de Cupressaceae, *Cupressus* spp., *Juniperus phoenicea* y *Thuja occidentalis*. En los últimos 22 años se han recibido más de 100 muestras y consultas acerca de estas especies, en las que hemos hecho 125 determinaciones, diagnósticos o detecciones de las que presentamos en este trabajo un resumen.

Las afecciones más habituales en cupresáceas en Baleares se deben a insectos (56%), ocasionalmente a hongos (19,2%), fisiopatías (14%), o bien no se pudo determinar la causa (10,4%). Entre los hongos cabe destacar que *Seiridium cardinale*, causante del ampliamente citado chancro del ciprés sólo se ha detectado en tres ocasiones. Por su parte el hongo *Diplodia cupressi* (sin. *Diplodia pinea* f.sp. *cupressi*) sólo detectado en una ocasión reciente en un ejemplar singular catalogado de *Cupressus macrocarpa*, donde el hongo se manifestó muy virulento.

Por lo que respecta a los insectos, destaca el cerambícido *Semanotus laurasi*, que se ha encontrado en 25 ocasiones, cifra que ha ido en aumento progresivo en los últimos años, hasta el punto en que actualmente en la mayoría de las consultas que se reciben en el LOSVIB sobre Cupresáceas se detecta su presencia y se asocia a los daños. También destaca el escolítido *Phloeosinus aubei*, habitual en las distintas especies de cupresáceas, aunque generalmente con daños menores y casi siempre en ejemplares debilitados por otras causas.

Entre los problemas de origen abiótico, destacan los causados por vientos y la sequía en algunos sabinars (*Juniperus phoenicea*). También se presentan con frecuencia problemas de asfixia, habitualmente en *Cupressus leylandii* de elevado porte al ser plantados como ornamentales en jardines, a demasiada profundidad y recibir abundantes riegos y/o con las conducciones del mismo muy cerca de raíz principal y cuello.

8ª SESIÓN

Temas generales

Moderadores

Ana Palacio Bielsa Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (Zaragoza)

Adela Abelleira Argibay Estación Fitopatológica de Areeiro- Diputación de Pontevedra



DETECCIONES FITOSANITARIAS EN MUESTRAS DE EXPORTACIÓN

Muñoz, R. M.; Castillo, P.; Lerma, M. L.

¹Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP)
(rmg.itap@dipualba.es)

En el Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del ITAP se realizan, desde el año 2004, detecciones para la exportación de productos vegetales castellano- manchegos.

Hasta 2009, las muestras procedían de la provincia de Albacete, incorporándose muestras de las provincias de Cuenca, Ciudad Real y Toledo en los años 2010, 2011 y 2012, respectivamente.

Inicialmente, las muestras recibidas fueron de ajo y cebolla, cultivos que frecuentemente han demandado diagnósticos y detecciones fitosanitarias en nuestro servicio.

Sin embargo, posteriormente, se incorporaron muestras de otros cultivos con menos demanda en nuestro laboratorio fitosanitario, y cuyo producto a exportar eran semillas, como colza y girasol.

La legislación relativa a certificación fitosanitaria para la exportación ha sido actualizada en 2021 (Real Decreto 387/2021) y, en 2022, en cumplimiento de la citada normativa, nuestro laboratorio fue designado por la Junta de Comunidades de Castilla La Mancha como laboratorio fitosanitario oficial, dentro del ámbito de otras actividades oficiales de control del Ministerio, donde se incluyen las detecciones de muestras de exportación.

Los organismos a detectar dependen de los requisitos fitosanitarios específicos requeridos por el país de destino y pueden ser de distinto tipo: insectos, ácaros, nematodos, hongos, bacterias, virus, fitoplasmas e incluso plantas parásitas. Por ello, los métodos de diagnóstico utilizados son muy variados, desde observación directa hasta técnicas moleculares basadas en la PCR.

El presente trabajo pretende ser una puesta en común de las distintas metodologías utilizadas en función de los organismos nocivos solicitados.

VERIFICACIÓN DE MÉTODOS INTERNOS BASADOS EN MÉTODOS NORMALIZADOS POR LA TÉCNICA DE PCR.

Rodríguez, M.C.¹

¹Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería. AGAPA. Junta de Andalucía (mariac.rodriguez.salido@juntadeandalucia.es).

La entrada en vigor del **reglamento (UE) 2017/625 del parlamento Europeo y del Consejo** de 15 de marzo de 2017 obliga, *con algunas excepciones*, a los laboratorios que para ser designados *oficiales*, deben tener acreditados sus ensayos para el año 2022.

En el ámbito de la sanidad vegetal, esto supone un esfuerzo importante por el coste, la envergadura del trabajo, las idiosincrasias del mismo y la poca experiencia existente en materia de acreditación en el área de la sanidad vegetal. El Ministerio creó una comisión de trabajo al respecto, que tras unos años, ha aclarado algunas cuestiones fundamentales (por ej. la definición de control oficial y de otras actividades de control oficial) mientras que otras van terminando de perfilarse, como la acreditación para Categoría de ensayo. Esta modalidad de acreditación se adapta más al perfil de los laboratorios de sanidad vegetal, ya que permite la agrupación de los ensayos, por su técnica o método para determinar un parámetro o familia de parámetros en un producto o familia de productos.

El Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal de Almería en 2021, acreditó la detección de nuevos patógenos, a los ya acreditados, por la técnica de PCR (ToBRFV, *Ca.Liberibacter* spp., *Xanthomonas citri* subsp. *citri* y PSTVd), con el objetivo futuro de que pudiese ampliarse la acreditación para Categoría de ensayo. Para ello, el laboratorio elaboró un procedimiento que desarrolla un esquema de trabajo genérico para el supuesto de verificación de *métodos internos basados en métodos normalizados*, por la técnica de PCR.

El esquema de trabajo aglutina lo recogido en la norma ISO/IEC 17025:2017 y en el procedimiento EPPO PM7/98 y se compone de tres etapas:

La primera, *Análisis de riesgos*. Consistente en identificar de qué tipo de material de referencia se dispone (ej. positivo/negativo, cultivo puro, ADN) y los datos de validación disponibles (ej. intercomparativos o EPPO), los cambios a realizar respecto del método normalizado (ej. reactivos, métodos de extracción), la sensibilidad requerida, la selección de matrices (en el caso de patógenos polífagos) o los tipos de controles de calidad, entre otros.

En la segunda, *Definir los parámetros/extensión a verificar en el ensayo* (ej. eficiencia, sensibilidad analítica, especificidad, repetibilidad y reproducibilidad) y cómo determinar los valores de los mismos. (diseñar los experimentos y los criterios de aceptación)

Y la última, *Emisión del Informe de verificación*. Donde se recogen las conclusiones de la verificación del método incluida la evaluación de la concordancia entre los resultados obtenidos y los datos de validación y la justificación de las modificaciones realizadas o de las desviaciones detectadas.

CURSO BTSF DE LA COMISIÓN EUROPEA SOBRE BROTES DE ENFERMEDADES VEGETALES Y PLANES DE CONTINGENCIA

Flores, R.¹

¹Laboratorio de Control Oficial Agroganadero y Agroalimentario de Sevilla. AGAPA. Junta de Andalucía.

Resumen de los principales contenidos y conclusiones del curso de formación 'Enfermedades vegetales y planes de contingencia', organizado por la Comisión Europea dentro del programa Better Training for Safer Food.

El nuevo reglamento de la UE 2016/2031 sobre Medidas de protección contra las plagas vegetales reconoce los riesgos que suponen para la agricultura y el medio ambiente de los países de la unión la entrada de nuevas plagas y patógenos vegetales. Para enfrentar estos riesgos establece nuevos programas de inspección y análisis de organismos de cuarentena. En especial, se definen 20 plagas prioritarias, y la necesidad de que cada país diseñe prospecciones anuales y planes de contingencia específicos contra cada una de ellas, que recojan información sobre la legislación que les afecta, su biología y métodos de inspección y análisis, los procesos de toma de decisión, procedimientos, protocolos y actuaciones previas, inmediatas y de control a seguir en caso de detección.

Grupo nº 5 (1: Nematodos, 2: Bacterias y fitoplasmas 3: Hongos y Oomicetos, 4: Virus y viroides, 5: Temas generales)

GALERÍA FOTOGRÁFICA DEL GEDDI, ACTUALIZACIÓN DE ESTADO

Olmo, D.

Laboratorio Oficial de Sanidad Vegetal de las Islas Baleares (LOSVIB)- Instituto de Investigación y Formación Agroalimentaria y Pesquera de Las Illes Balears (IRFAP), Govern Balear, 07009 Palma, Spain dolmo@irfap.es

En 2018-2020 se inició la recopilación y revisión de imágenes del cultivo del tomate, siendo su responsable Remedios Santiago (SSV-Badajoz). A finales de 2020 se subieron las imágenes al sistema mediante una subida masiva por la empresa contratada para el desarrollo de la web.

El 12 de marzo de 2021 se presenta oficialmente la Galería a los socios de la SEF.

Durante 2021-2022 se realizó la recopilación y revisión de imágenes del cultivo del almendro, siendo su responsable Nieves Capote (IFAPA Sevilla). También se recopiló una segunda tanda de imágenes de Tomate. En ambos casos las subidas al sistema ya se hicieron individualmente por parte de los socios responsables de la sección web del GEDDI en la web de la SEF.

Durante 2023 se está realizando la recopilación de Vid y Olivo

Actualmente (oct 2023) la galería dispone de: 881 imágenes, de 15 autores, y que representan 91 enfermedades.

Cultivo	Coord.	Autores participantes	Enfermedades por grupo de agente causal					Total Enf.	Imágenes	Ratio N° Fotos/ N° Enfermedad
			H y Oo	B	V	N	F			
Tomate	Remedios Santiago	14	18	6	14	2	1	41	371	9,05
Almendro	Nieves Capote	6	16	4	1			21	173	8,24
Vid	Rami Muñoz	4	11	4		1	1	17	189	11,12
Olivo	Juana Páez	4	9	2		1		12	148	12,33
TOTAL			54	16	15	4	2	91	881	9,68

Las propuestas para seguir en 2024 son proponer la recolección de imágenes para nuevos cultivos, seguir completando las colecciones ya existentes de imágenes de cultivos y realizar mejoras en el uso de los filtros, depuración de errores/erratas, así como vinculación con el Catálogo de Patógenos Descritos en España de la SEF.

DICCIONARIO DE FITOPATOLOGIA: RESULTADO DEL TRABAJO DE LA COMISIÓN DEL LÉXICO.

Cambrá, M.¹; López, M.M.¹; Montes, F.²; Páez, J.I.³; Romero, J. (†)⁴; Murillo, J.⁵ y Palacio, A.⁶.

¹Jubilado, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.

²Jubilado, Lab. de Producción y Sanidad Vegetal. Junta de Andalucía.

³Lab.de Control Oficial Agroal. Y Agrog. Sevilla, AGAPA. Junta de Andalucía. (juanai.paez@juntadeandalucia.es).

⁴Jubilado, Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (fallecido).

⁵IMAB, Universidad Pública de Navarra.

⁶CITA, Universidad de Zaragoza.

Hace 9 años se formó la Comisión del Léxico fruto de su trabajo es el diccionario de fitopatología, que se publicara tanto en formato papel como electrónico permitiendo así su actualización. El diccionario incluye 7781 términos.

Este diccionario recoge la terminología específica relativa a métodos, técnicas y sistemas de detección, incluida la teledetección, diagnóstico e identificación de agentes patógenos de plantas cultivadas y masas forestales, causadas o asociadas a virus, satélites, viroides, hongos, oomicetos, bacterias con y sin pared o fitoplasmas, nematodos y plantas parásitas, así como de sus vectores y el mecanismo o modo de transmisión. Se describe la terminología relativa al material de laboratorio e instrumental necesario para realizar análisis, así como los parámetros de diagnóstico necesarios para la validación de pruebas e instrumental y su estandarización o normalización. Se ha incluido el léxico relacionado con Sistemas de Gestión de la Calidad (SGC), certificación vegetal, Sanidad Vegetal, bioseguridad, biocontención, biotecnología y la terminología fitosanitaria de la FAO, EPPO y EFSA. El diccionario de léxico fitopatológico incluye además, aquellas siglas y acrónimos de instituciones relacionadas con la Fitopatología y Sanidad Vegetal y las relativas a técnicas y métodos analíticos.

El diccionario describe los síntomas y signos de la enfermedad y recopila el nombre común de enfermedades y fisiopatías.

EL GEDDI: SITUACIÓN ACTUAL Y EVOLUCIÓN

Palomo, J.L.

Grupo Especializado en Detección, Diagnóstico e Identificación de la SEF (jluis.palomo@jcyl.es).

El Grupo Especializado en Detección, Diagnóstico e Identificación de la SEF se creó en el año 2011 al amparo de la normativa para la creación y funcionamiento de Grupos especializados dentro de la SEF. Entre los objetivos de este Grupo destaca la organización de sesiones científicas, reuniones, conferencias, simposios, etc. relacionados con las técnicas de detección, diagnóstico e identificación de organismos fitopatógenos, la cooperación entre sus socios y la armonización de las diferentes técnicas de detección y diagnóstico.

En la actualidad el Grupo está compuesto por 139 socios, representantes de Laboratorios Oficiales, Universidades, Centros de Investigación, Empresas Privadas, etc. El desarrollo de los trabajos del GEDDI se ha organizado mediante Comisiones de Trabajo, formadas por un Coordinador y un grupo de socios participantes. Actualmente destacan los trabajos efectuados por la Comisión de Léxico y la Galería Fotográfica.

Hasta la fecha se han organizado 5 Reuniones Científicas, 3 Simposios y 1 Jornada Online. En los próximos meses se va a organizar un Curso Online de análisis bioinformáticos para el diagnóstico de patógenos vegetales (Nivel básico) centrado en secuenciación parcial de tipo Sanger.

El GEDDI tiene una Junta Directiva que consta de Presidente, Secretario, Tesorero y Vocal, que se renueva cada dos años de forma parcial. En la actualidad está formada por Jose Luis Palomo, Diego Olmo, Jaime Cubero y Elena Landeras respectivamente.

Aunque la evolución del GEDDI-SEF es favorable y existe un incremento constante en el número de socios y una buena respuesta por parte de sus miembros a las diferentes actividades organizadas (Reuniones, Simposios, Cursos, etc.), sin embargo, existe un estancamiento en la creación de nuevas Comisiones de Trabajo, así como en la evolución y finalización de las mismas. De igual forma se ha detectado una falta de presentación de trabajos en las Reuniones Científicas, donde prácticamente la mitad de los asistentes no presentan ningún trabajo, cuando uno de los objetivos de estas reuniones es que los miembros del GEDDI den a conocer sus temas de trabajo y favorecer las colaboraciones y el intercambio de ideas.