

Libro de Resúmenes



XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología

20-23 de Septiembre del 2016
Palencia



ÍNDICE

<u>PRÓLOGO</u>	5
<u>COMITÉS</u>	
COMITÉ DE HONOR.....	6
COMITÉ ORGANIZADOR.....	8
COMITÉ CIENTÍFICO.....	9
<u>PATROCINADORES</u>	10
<u>PROGRAMA ABREVIADO</u>	13
<u>PROGRAMA COMPLETO</u>	14
<u>LISTADO DE PANELES</u>	30
<u>SIMPOSIOS</u>	45
<u>RESÚMENES DE COMUNICACIONES INVITADAS</u>	48
<u>RESÚMENES DE COMUNICACIONES ORALES</u>	56
- PLENARIAS	
I.....	58
II.....	63
III.....	70
V.....	75
- <u>SIMULTÁNEAS</u>	
• I	
TEATRO PRINCIPAL.....	81
DIPUTACION PROVINCIAL.....	88
ABILIO CALDERÓN.....	95
• II	
TEATRO PRINCIPAL.....	102
DIPUTACION PROVINCIAL.....	111
ABILIO CALDERÓN.....	120
• III	
TEATRO PRINCIPAL.....	129
DIPUTACION PROVINCIAL.....	136
ABILIO CALDERÓN.....	143
<u>RESÚMENES DE COMUNICACIONES PÓSTER</u>	150
<u>ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES</u>	350

PRÓLOGO

Estimados colegas:

!!!Bienvenidos al XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología (SEF) en Palencia!!!

Durante esta semana os ofreceremos un congreso con una estructura similar a los anteriores, con ponencias plenarias y tres sesiones de conferencias simultáneas, así como el típico espacio para posters. Se han programado siete conferencias plenarias invitadas que se complementarán, con dos simposios programados para el primer día.

Este congreso presenta una logística muy particular en relación con otros anteriores, ya que se celebrará en tres edificios en pleno centro de Palencia: (1) el Teatro Principal, (2) El Palacio de Diputación, y (3) el Centro Cultural de Abilio Calderón. Esta división en tres edificios distintos nos ha condicionado las pausas café del congreso, que se llevarán a cabo en 5 cafeterías cercanas a las sedes (en la mochila encontrareis un mapa de localización).

En definitiva, con los condicionantes anteriormente señalados, e intentando tomar ventaja de las limitaciones que pudiéramos tener en una ciudad de pequeño tamaño como es Palencia, hemos tratado de ofrecer un congreso diferente, muy cercano, inmerso en la vida de la ciudad. Quizás muchos de vosotros echéis de menos el típico pabellón de congresos de gran capacidad, pero por nuestra parte este congreso ha sido una apuesta, por un método diferente de organizar reuniones, y donde los congresistas aprovechen las ventajas del lugar, se olviden del coche y del transporte público, y saboreen la tranquilidad que ofrece una pequeña ciudad como Palencia

Esperamos que tengáis una excelente estancia en Palencia!!!

Recibe un cordial saludo,

Dr. Julio Javier Diez Casero

*Presidente del Comité Organizador del XVIII Congreso SEF
Catedrático de Universidad
UVa*

COMITÉ DE HONOR:

Presidente del Comité de honor:

S.M. el Rey D. Felipe VI

Comité:

Excmo. Sr. D, Juan Vicente Herrera Campo. Pte. de la Junta de CyL.

Ilmo. Sr. D. Alfonso Polanco Rebolledo, Alcalde
del Excmo. Ayuntamiento de Palencia.

Excmo. Sr. D. Juan Carlos Suárez-Quiñones y Fernández. Consejería
de Fomento y Medio Ambiente.

Ilma. Sra. D^a. Ángeles Armisén Pedrejón. Presidenta de la Diputación de
Palencia.

Excmo. y Mafgco. Sr. D. Daniel Miguel San José. Rector de la
Universidad de Valladolid.



CASA DE S. M. EL REY

C R E D E N C I A L

Nº 219/2016

Su Majestad el Rey, accediendo a la petición que tan amablemente Le ha sido formulada, ha tenido a bien aceptar la

PRESIDENCIA DEL COMITÉ DE HONOR

del «**XVIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA**», que se celebrará en Palencia del 20 al 23 de septiembre próximo.

Lo que me complace participarle para su conocimiento y efectos.

PALACIO DE LA ZARZUELA, 3 de agosto de 2016

EL JEFE DE LA CASA DE S.M. EL REY,

SEÑOR PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR DEL CONGRESO.

PALENCIA

COMITÉ ORGANIZADOR:

Julio Javier Díez Casero - Presidente
Fernando Manuel Alves Santos - Vicepresidente
Jorge Martín García - Secretario
Elena Hidalgo Rodríguez - Tesorera

VOCALES:

Mercedes Fernández Fernández
Pablo Martínez Álvarez
Emigdio Jordán Muñoz Adalia
Asdrúbal Flores Pacheco
Diana Bezos
Cristina Prieto
Carmen Romeralo
Raúl Arcadio Fernández González
Mariano Rodríguez Rey

COMITÉ CIENTÍFICO:

Jesús Murillo Martínez (Universidad Pública de Navarra)

Jaime Cubero Dabrio (INIA)

Amaia Ortíz Barredo (NEIKER-TECNALIA)

Carolina Escobar Lucas (Universidad Castilla La Mancha)

Antonio Olmos Castelló (IVIA)

Ana Palacio Bielsa (CITA-Aragón)

Juan Antonio Navas Cortés (CSIC)

Jesús Ángel Sánchez Navarro (CSIC-UPV)

Inmaculada Viñas Almenar (Universidad de Lleida)

PATROCINADORES

SPONSOR B



SPONSOR C



COLABORAN



PROGRAMA ABREVIADO

Horario	Martes 20	Miércoles 21	Jueves 22	Viernes 23
09:00-09:30	Simposio 1 Simposio 2	Sesión plenaria II	Sesión plenaria IV	Salida
09:30-10:00				
10:00-10:30				Llegada a la Ventosilla y visita de pinar afectado
10:30-11:00				
11:00-11:30				Pausa Café-Posters
11:30-12:00		Pausa Café-Posters (51-100)		
12:00-12:30		Sesión plenaria III	Sesión plenaria V	Cata de dos vinos PRADOREY con picoteo de ibéricos, degustación de aceite y queso PRADOREY
12:30-13:00				Visita a viñedos con oidio, mildiu con técnico de finca
13:00-13:30				
13:30-14:00				
14:00-14:30	Registro de los participantes	Comida-Posters		Comida-Posters (Todos)
14:30-15:00				
15:00-15:30				
15:30-16:00	Inauguración del Congreso			
16:00-16:30	Sesión plenaria I	Sesiones simultáneas II	Sesiones simultáneas III	
16:30-17:00				
17:00-17:30				
17:30-18:00			Pausa Café-Posters	
18:00-18:30	Pausa Café-Posters (1-50)	Pausa Café-Posters (151-200)	Conferencia de clausura	
18:30-19:00	Sesiones simultáneas I	Asamblea de la SEF		
19:00-19:30				
19:30-20:00				
20:00-20:30	Visita a la ciudad			
20:30-21:00				
21:00-21:30	Bienvenida en el Ayuntamiento de Palencia		Cena de gala	
21:30-22:00				

PROGRAMA DEL CONGRESO

Martes, 20 de Septiembre de 2016

SYMPOSIUMS

09:00-13:30 Simposio 1 Inmunidad innata en plantas y resistencia a la enfermedad

Sede: Teatro Principal

09:00-13:00 Simposio 2 *Xylella fastidiosa*: una especie compleja causante de enfermedades emergentes en Europa

Sede: Salón de actos de la Diputación de Palencia

CONGRESO

14:00-15:30 Registro de los Participantes

15:30-16:00 Inauguración del Congreso

16:00-18:00 *Sesión Plenaria I*

Moderadores: Julio J. Díez / Michael Thon

16:00-17:00 Ponencia Inaugural Mike J. Wingfield (FABI) Fungal tree diseases: Can we rise above the gathering storm?

17:00-17:15 R-0093 DESARROLLO DE UN MODELO ESPACIALMENTE EXPLÍCITO PARA PREDECIR LA EVOLUCIÓN DE LA INFECTIVIDAD EN UNA POBLACIÓN HETEROGÉNEA DE VIRUS

Oral

Bruno Cuevas Zuviría, Aurora Fraile, Fernando García-Arenal

17:15-17:30 R-0061 PHENOTYPIC AND GENOMIC ANALYSIS OF XANTHOMONAS ARBORICOLA STRAINS ALLOWED TO IDENTIFY FEATURES ASSOCIATED TO PATHOGENESIS IN X. ARBORICOLA PV. PRUNI

Oral

Jerson Garita Cambronero, Elisa Ferragud Capó, Ana Palacio Bielsa, María Milagros López González, Jaime Cubero Dabrio

17:30-17:45 R-254 MONITORIZACIÓN DE LA INCIDENCIA, DISPERSIÓN E IMPACTO DE LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO EN PLANTACIONES DE PINO RADIATA

Oral

Rosa Raposo , Margarita Elvira-Recuenco , Ana Aragonés , Laura Hernández , Tania Manzanos , Alejandro Cantero , Daniel Saénz , Isabel Tazo , Nebai Mesanza , Cheryl L. Patten , Alexander Brenning , Iturritxa Eugenia Ritter Enrique

17:45-18:00 R-146 CHARACTERIZATION OF RESISTANCE TO ALL CHEMICAL CLASSES OF SITE-SPECIFIC FUNGICIDES REGISTERED FOR GRAY MOLD CONTROL ON STRAWBERRIES IN SPAIN

Oral

Dolores Fernández Ortuño, Juan Antonio Tores, Manuel Chamorro, Alejandro Pérez García, Antonio de Vicente

18.00-18.30 Pausa Café-Posters (1-50)

XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, 20-23 Septiembre 2016, Palencia

18:30-20:00 Sesiones Simultáneas I

-Teatro Principal (C)

Moderadores sesión I: Control

Juan J. Rodríguez Herva / Fernando M. Alves

18:30-18:45 R-129 RESISTENCIA A COBRE Y DODINA EN CEPAS DE PSEUDOMONAS SAVASTANOI PV. SAVASTANOI: NUEVO OBSTÁCULO PARA EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS DEL OLIVO.

Oral

Pedro Miranda Fuentes, Luis Fernando Roca, M^a Carmen Raya, Antonio Trapero

18:45-19:00 R-154 MODULACIÓN DE LA INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO MEDIANTE PÉPTIDOS SINTÉTICOS MULTIFUNCIONALES

Oral

Lidia Ruz, Laura Montesinos, Esther Badosa, Beatriz Gascón, Cristina Camó, Marta Planas, Lidia Feliu, Emilio Montesinos

19:00-19:15 R-218 BIESTABILIDAD EN LA EXPRESIÓN DE GENES DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III DE PSEUDOMONAS SYRINGAE

Oral

Jose S. Rufián, María A. Sánchez Romero, Márquez Diego López, Pagán Nieves López, Albert Javier Ruiz, Josep Casadesús, Carmen R. Beuzón

19:15-19:30 R-271 EL PLÁSMIDO pPsv48C ES ESENCIAL PARA LA PRODUCCIÓN DE TUMORES EN OLIVO Y MANTIENE SU ESTRUCTURA GRACIAS A TRES SISTEMAS TOXINA-ANTITOXINA

Oral

Maite Añorga García, Adrián Pintado Calvillo, Leire Bardaji Goikoetxea, Cayo Ramos Rodríguez, Jesús Murillo Martínez

19:30-19:45 R-290 EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD AL FUEGO BACTERIANO DE LA PROGRENIE DE 'MEANA' X 'FLORINA'

Oral

Enrique Dapena de la Fuente, M^a Fe Marcos Fernández, Iván Fernández López, M^a Dolores Blázquez Noguero, M^a Piedad Campelo Rodríguez, Alicia Lorenzana de la Varga, Eva M^a Gómez-Bernardo Villar

19:45-20:00 R-055 PATOGENEICIDAD DE ESPECIES DE PYTHIUM Y PHYTOPHTHORA EN PIMIENTO

Oral

Ana Pérez Hernández, Ainhoa Fernández Martín, Antonio Aguilera Lirola, Julio Gómez Vázquez, Miguel de Cara García

18:30-20:00 -Diputación Provincial (D)

Moderadores sesión II: Interacción Planta-Microorganismo

Pablo Castillo / JOscar Santamaría

18:30-18:45 R-032 APROXIMACIÓN FUNCIONAL AL EFECTO SUPRESIVO DE LA CÁSCARA DE ALMENDRA COMPOSTADA APLICADA AL CULTIVO DEL AGUACATE

Oral

Carmen Vida Hinojosa, Antonio de Vicente Moreno, Francisco Manuel Cazorla López

18:45-19:00 R-139 CONTROL BIOLÓGICO DE VERTICILLIUM DAHLIAE POR PENICILLIUM RUBENS (PO212) EN ALCACHOFA Y BERENJENA

Oral

Inmaculada Larena Nistal, María Carreras, Yolanda Herranz, Lorena Conejero, Paloma Melgarejo, Antonieta De Cal

19:00-19:15 R-178 USO DE PATRONES RESISTENTES PARA EL CONTROL DE LA VERTICILLOSIS DEL OLIVO

Oral

Pedro Valverde-Caballero, Carlos Trapero, Octavio Arquero, Nicolás Serrano, Luis Fernando Roca, Francisco Javier López-Escudero

19:15-19:30 R-220 ANTAGONISMO IN VIVO DE HONGOS ENDÓFITOS FRENTE A FUSARIUM CIRCINATUM.

Oral

Raúl Arcadio Fernández González, Pablo Martínez Álvarez, Julio J. Diez Casero

19:30-19:45 R-275 BENEFICIAL EFFECTS OF AN ENDOPHYTIC FUNGUS IN ULMUS MINOR AGAINST INVASION BY OPHIOSTOMA NOVO-ULMI

Oral

Juan Sobrino Plata, Iván Fernández, David Medel, Sara María Ormeño, Begoña Coira, Carmen Collada, Juan Antonio Martín, Corné M.J. Pieterse, Luis Gil

19:45-20:00 R-276 CASTANEA SATIVA ANTE EL CAMBIO GLOBAL: IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS TOLERANTES AL ESTRÉS HÍDRICO Y A NUEVAS ESPECIES DE PHYTOPHTHORA

Oral

Alejandro Solla, María Ángeles Martín, Álvaro Camisón, Francisco Alcaide, Paloma Abad, Santiago Català, Beatriz Mora, Beatriz Cuenca

18:30-20:00 -Abilio Calderón (A)

Moderadores sesión III: Etiología y Diagnóstico

Israel Pagán/ José A. Darós

18:30-18:45 R-130 DIVERSITY OF MYCOVIRUSES IN FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. DIANTHI: CHARACTERIZATION OF A NEW MEMBER OF THE FAMILY HYPOVIRIDAE

Oral

Almudena Torres Trenas, Carmen Cañizares Nolasco, Carlos Lemus Minor, María Dolores García Pedrajas, Encarnación Pérez Artés

18:45-19:00 R-099 LA VARIABILIDAD Y LA INTERFERENCIA ENTRE VARIANTES DE SECUENCIA DEL VIROIDE DEL MOSAICO LATENTE DEL MELOCOTONERO DIFICULTAN SU ANÁLISIS POR TAQMAN RT-PCR

Oral

Pedro Serra Alfonso, Edson Bertolini, María Carmen Martínez , Mariano Cambra , Ricardo Flores Pedauyé

19:00-19:15 R-114 ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA ALFALFA EN ALFALFARES DEL VALLE DEL EBRO A LO LARGO DE SU CULTIVO

Oral

Pablo Monge Blasco, Fernando Escriu Paradell

19:15-19:30 R-202 ENTOLEUCA HYPOVIRUS 1, UN NUEVO HYPOVIRUS IDENTIFICADO EN ENTOLEUCA SP. PROCEDENTE DE AGUACATE

Oral

Leonardo Velasco, Isabel M. Arjona Girona, María Teresa Ariza, Enrico Cretazzo, Juan Manuel Arjona López, Carlos López Herrera

19:30-19:45 R-229 EVALUACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE PCR E HIBRIDACIÓN MOLECULAR NO RADIACTIVA PARA LA DETECCIÓN POLIVALENTE DE TOMATO LEAF CURL NEW DELHI VIRUS, TOMATO YELLOW LEAF CURL VIRUS Y TOMATO YELLOW LEAF CURL SARDINIA VIRUS

Oral

Jesús Ángel Sánchez Navarro, Ana Alfaro Fernández, Micaela Landeira, María Isabel Font, Desamparados Hernández Llópis, Vicente Pallás Benet

19:45-20:00 R-248 SECUENCIACIÓN MASIVA DE PEQUEÑOS RNAS DERIVADOS DE MICOVIRUS QUE INFECTAN ESPECIES DEL HONGO BOTRYTIS

Oral

Livia Donaire, María A. Ayllón

21:00 Visita a la Ciudad y bienvenida en el Ayuntamiento de Palencia

[Miércoles, 21 de Septiembre de 2016](#)

09:00-11:00 *Sesión Plenaria II*

Moderadores: Antonio Vicent , Jorge Martín-García

09:00-10:00 Ponencia: Tom Gordon (UC Davis) Physiological plasticity in plant-fungal interactions

10:00-10:15 R-017 IDENTIFICACIÓN DE UNA FAMILIA DE QUITINASAS DE PODOSPHEERA XANTHII IMPLICADAS EN LA MANIPULACIÓN DE LA INMUNIDAD DISPARADA POR QUITINA

Oral

Jesús Martínez Cruz, Diego Romero Hinojosa, Antonio de Vicente Moreno, Alejandro Pérez García

10:15-10:30 R-080 VARIACIÓN DE LOS PATOTIPOS Y RAZAS Y SU CORRELACIÓN CON LINAJES CLONALES EN VERTICILLIUM DAHLIAE

Oral

Rafael Manuel Jiménez Díaz, Concepción Olivares- García, José Luis Trapero Casas, María del Mar Jiménez Gasco, Juan Antonio Navas Cortés, Blanca B. Landa del Castillo, Michael G. Milgroom

10:30-10:45 R-084 DICER-LIKE 4 ESTÁ IMPLICADO EN LA RESTRICCIÓN DEL MOVIMIENTO SISTÉMICO DEL VIRUS DEL MOSAICO AMARILLO DEL CALABACÍN EN NICOTIANA BENTHAMIANA

Oral

José Antonio Darós Arnau, María Teresa Cordero Cucart, Lidia Cerdán García, Alberto Carbonell Olivares, Konstantina Katsarou, Kriton Kalantidis

10:45-11:00 R-102 EL RÉGIMEN DE LUZ REGULA LA PATOGÉNESIS EN PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. TOMATO DC3000

Oral

Saray Santamaría Hernando, Isabel Del Río Álvarez, José Juan Rodríguez Hervá, Emilia López Solanilla

11:00-11:15 R-063 A GENOME-WIDE SURVEY OF MUTATIONS IN WILD ISOALTES OF THE MAIZE PATHOGEN COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA

Oral

Michael R Thon, Gabriel E Rech, José M. Sanz Martín, Serenella A. Sukno

11:15-11:30 R-005 RNAS DE PEQUEÑO TAMAÑO DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS EN AGALLAS DE ARABIDOPSIS FORMADAS POR MELOIDOGYNE JAVANICA

Oral

Javier Cabrera, Marta Barcala, Ana Cláudia Silva, Carmen Fenoll, Carolina Escobar

11:30-12:00 Pausa Café-Posters (51-100)

12:00-14:00 *Sesión Plenaria III*

Moderadores: Amaia Ortiz/Arancha Moreno

12:00-13:00 Ponencia: Mariano Cambra (IVIA) Intensidad vectorial y su reducción. El número de pulgones PPV o CTV virulíferos que aterrizan en un árbol se cuentan para su infección

13:00-13:15 R-141 EFECTO DE LAS INFECCIONES MIXTAS EN LA DINÁMICA EVOLUTIVA DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE (PEPMV) EN TOMATE

Oral

Cristina Alcaide, Cristina Gómez-Aix, Miguel Juárez, María Amelia Sánchez-Pina, Miguel Ángel Aranda, Pedro Gómez

13:15-13:30 R-134 REGULATION OF THE IMMUNITY REPRESSOR BIR1 BY THE RNA-DIRECTED DNA METHYLATION PATHWAY DURING VIRAL INFECTIONS

Oral

Irene Guzmán Benito, Laura Diezma Navas, Livia Donaire Segarra, Andrzej Wierzbicki, Virginia Ruiz Ferrer, César Llave

13:30-13:45 R-221 NEW INSIGHTS INTO THE MOLECULAR BIOLOGY, TRANSMISSION AND CONTROL OF TOMATO-INFECTING TORRADOVIRUSES

Oral

Inmaculada Ferriol , Erika J. Zamora Macorra, Massimo Turina , Bryce W. Falk

13:45-14:00 R-227 PAPEL DEL SILENCIAMIENTO GÉNICO EN LA REGULACIÓN DE GENES R DURANTE LA INTERACCIÓN CON PSEUDOMONAS SYRINGAE.

Oral

Diego López Márquez, Edgar Antonio Rodríguez Negrete, Nieves López Pagán, Adela Zumaquero Jiménez, Eduardo Rodríguez Bejarano, Carmen Rosario Beuzón López

14:00-16:00 Comida-Posters

16:00-20:00 Sesiones Simultáneas II

16:00-18:00 -Teatro Principal (C)

Moderadores sesión I: Control

Isabel Munk / Frederic Aparicio

16:00-16:15 R-086 POTATO VIRUS Y HC PRO EXPRESSED FROM A VIRAL VECTOR BINDS IN PLANT WITH PREFERENCE TO SMALL RNAs OF 21 AND 22 NT, OF VIRAL SEQUENCE, AND WITH ADENINES AT THEIR 5' -ENDS

Oral

Francisco Javier del Toro Serna, Livia Donaire Segarra, Emmanuel Aguilar Parras, Bong-Nam Chung, Francisco Tenllado Peralo, Tomás Canto Ceballos

16:15-16:30 R-107 DIFFERENTIAL TRADE-OFFS CONFERRED BY VIRUS INFECTIONS IN PLANTS GROWN UNDER WATER DEFICIT

Oral

Emmanuel Aguilar Parras, Carmen Cutrona Sánchez, Francisco Javier del Toro Serna, José G. Vallarino, Sonia Osorio, María Luisa Pérez-Bueno, Matilde Barón Ayala, Bong-Nam Chung, Tomás Canto Ceballos, Francisco Tenllado Peralo

16:30-16:45 R-116 CMV1 ENCODES A VACUOLAR PROTEIN SORTING 41 INVOLVED IN VESICLE TRAFFICKING TO THE VACUOLE AND DETERMINES CUCUMBER MOSAIC VIRUS TRANSPORT TO THE PHLOEM.

Oral

Ana Montserrat Martín Hernández, Laura Pascual, Ana Giner, Pablo Ríos, Gabor Gyetvai, Michael Bourgeois, Belén Picó, Jordi García Mas

16:45-17:00 R-147 CARACTERIZACIÓN DE LA TOLERANCIA AL TOMATO LEAF CURL NEW DELHI VIRUS EN MELÓN

Oral

Cristina Sáez Sánchez, María Ferriol Molina, Cecilia Martínez Martínez, Cristina Esteras Gómez, Carmelo López del Rincón, Belén Picó Sirvent

17:00-17:15 R-042 RESPUESTAS SISTÉMICAS TEMPRANAS DURANTE LA INTERACCIÓN TRIPARTITA VERTICILLIUM DAHLIAE -OLIVO-PSEUDOMONAS FLUORESCENS PICF7

Oral

Carmen Gómez-Lama Cabanás, Rafael Sesmero Carrasco, Antonio Valverde Corredor, F. Javier López Escudero, Jesús Mercado Blanco

17:15-17:30 R-078 DIFERENCIAS EN LAS RESPUESTAS DEFENSIVAS LOCAL Y SISTÉMICA DE ACEBUCHES RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A VERTICILLIUM DAHLIAE D Y PAPEL DE TRICHODERMA HARZIANUM EN SU SEÑALIZACIÓN

Oral

Irene Carrero Carrón, María Belén Rubio Pérez, Enrique Monte Vázquez, Rafael Manuel Jiménez Díaz, Rosa Hermosa Prieto

17:30-17:45 R-100 SOBRE LA DIVERSIDAD DE PROTEÍNAS ANTIFÚNGICAS EN HONGOS FILAMENTOSOS: EL EJEMPLO DEL PATÓGENO DE FRUTOS CÍTRICOS PENICILLIUM DIGITATUM

Oral

Sandra Garrigues Cubells, Mónica Gandía Gómez, Paloma Manzanares Mir, José F. Marcos López

17:45-18:00 R-106 VANILLYLNONANOATE INDUCES PHYSIOLOGICAL CHANGES IN PEPPER THAT CAUSE A SYSTEMIC RESISTANCE IN PEPPER AGAINST BOTRYTIS CINEREA

Oral

Tania García, Javier Veloso, José Díaz

16:00-18:00 -Diputación Provincial (B/A)

Moderadores sesión IIA: Epidemiología

Felipe Siverio / F. Javier Sorribas

16:00-16:15 R-079 EXPANSIÓN CLONAL Y MIGRACIÓN DE UN LINAJE DEFOLIANTE Y ALTAMENTE VIRULENTO DE VERTICILLIUM DAHLIAE

Oral

Rafael Manuel Jiménez Díaz, María del Mar Jiménez Gasco, Concepción Olivares García, Michael G. Milgroom

16:15-16:30 R-096 FACTORES CLIMÁTICOS Y GEOGRÁFICOS ASOCIADOS CON LA MANCHA NEGRA DE LOS CÍTRICOS CAUSADA POR PHYLLOSTICTA CITRICARPA. UNA APROXIMACIÓN BAYESIANA CON INLA

Oral

Antonio Vicent Civera, Antonio López Quílez, David Valentín Conesa Guillén, Joaquín Martínez Minaya

16:30-16:45 R-295 ASOCIACIÓN ENTRE PITYOPHTHORUS PUBESCENS Y FUSARIUM CIRCINATUM EN PLANTACIONES AFECTADAS POR LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO RESINOSO EN EL NORTE DE ESPAÑA

Oral

Diana Bezos, Pablo Martínez-Alvarez, Julio Javier Diez, Mercedes Fernández

16:45-17:00 R-071 LA DIVERSIDAD MOLECULAR DE ENDOSIMBIOTES BACTERIANOS ASOCIADOS CON EL GÉNERO XIPHINEMA (NEMATODA: LONGIDORIDAE) REVELA UNA ELEVADA CONGRUENCIA FILOGENÉTICA CON SU HUÉSPED

Oral

Juan Emilio Palomares Rius, Antonio Archidona Yuste, Carolina Cantalapiedra Navarrete, Pilar Prieto, Pablo Castillo

Moderadores sesión II-B: Etiología y Diagnóstico

José Luís Palomo/ Ester Marco

17:00-17:15 R-049 CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DEL AGENTE CAUSAL DE LA NECROSIS BACTERIANA DE LA DIPLADENIA

Oral

Eloy Caballo Ponce, Miguel Cerezo García, Cayo Ramos Rodríguez

17:15-17:30 R-045 PRIMERA DETECCIÓN DE LONSDALEA QUERCINA SUBSP. POPULI EN CHOPO EN ESPAÑA

Oral

Isabel M. Berruete Rodríguez, Raquel Collados Collados, Miguel A. Cambra Álvarez, M^a Luisa Palazón Español, Nieves Ibarra Ibáñez, Francisco Cañada Martín, Jaime Cubero Dabrio, Adela M. Monterde Latorre, María M. López González, Ana Palacio Bielsa

17:30-17:45 R-168 NUEVO HUÉSPED DE ERWINIA AMYLOVORA EN PLANTAS SILVESTRES: PRIMERA DETECCIÓN EN PYRUS BOURGAEANA (PIRUÉTANO)

Oral

Ester Marco Noales, Javier Peñalver, Inmaculada Navarro, María Teresa Gorris, Clara Morente, Covadonga Balguerías, José Antonio Ramírez, Carlos Recio, Teresa Ruiz de la Hermosa, Rosa Sancho, Carlos Aedo, María Milagros López

17:45-18:00 R-067 BLUE AND GREEN FLUORESCENCE AND THERMAL IMAGING IN THE EARLY DETECTION OF SUNFLOWER BROOMRAPE (OROBANCHE CUMANA WALLR.)

Oral

Carmen María Ortiz bustos, M^a Luisa Pérez Bueno, Matilde Barón Ayala, Leire Molinero Ruiz

16:00-18:00 -Abilio Calderón (D)

Moderadores sesión III: Interacción Planta-Microorganismo

María D. Ortuño / José María Díaz Mínguez

16:00-16:15 R-183 DESARROLLO DE UN PRODUCTO BIOPLAGUICIDA BASADO EN LACTOBACILLUS PLANTARUM PARA EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA

Oral

Núria Daranas Boadella, Gemma Roselló Prados, Jordi Cabrefiga Olamendi, Jesús Francés Ortega, Esther Badosa Romañó, Emilio Montesinos Seguí, Anna Bonaterra Carreras

16:15-16:30 R-145 PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EFECTIVOS EN EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA

Oral

Esther Badosa Romañó, Jordi Cabrefiga Olamendi, Laura Montesinos Barreda, Lúdia Ruz Estévez, Emilio Montesinos Saguí

16:30-16:45 R-182 NUEVOS AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO BACTERIANOS PARA EL CONTROL DE BOTRYTIS CINEREA EN EL VIÑEDO BORDELES

Oral

Carlos Calvo-Garrido, Nicolas Aveline, Ludivine Davidou, Thomas Gautier, Rana Haidar, Jean Roudet, Marc Fermaud

16:45-17:00 R-258 CUCUMIS METULIFERUS COMO POTENCIAL PORTAINJERTO DE MELÓN PARA EL CONTROL DE MELOIDOGYNE SPP.

Oral

Alejandro Expósito, Manuel López Gómez, María Munera, Ariadna Giné, Sandra Nogales, Judit Ramos, Montserrat Pujolà, María Isabel Achaerandio, Belén Picó, Carmina Gisbert, F Javier Sorribas

XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, 20-23 Septiembre 2016, Palencia

**17:00-17:15 R-151 AISLADOS DE LA FAMILIA XYLARIACEAE COMO
NUEVOS AGENTES DE BIOCONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA
RADICULAR DE AGUACATE**

Oral

María Isabel Arjona Girona, Carlos José López Herrera

**17:15-17:30 R-025 RESPUESTA CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE LA
MICROBIOTA DEL MELOCOTONERO A LAS APLICACIONES BIOLÓGICAS DE
LOS AGENTES DE BIOCONTROL PENICILLIUM FREQUENTANS (PF909) Y
BACILLUS SUBTILLIS (CPA8)**

Oral

Belén Guijarro Días-Otero, Inmaculada Larena Nistal, Neus Teixido , Paloma
Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina, Silvia Rodríguez Pires

**17:30-17:45 R-124 ALTERNATIVA DE CONTROL BIOLÓGICO DEL
CAMANDULEO DE LA PAPA OCACIONADA POR SPONGOSPORA
SUBTERRANEA F. SP. SUBTERRANEA**

Oral

Paula Elisabeth Mesa Quijano, Celsa García Domínguez, Alba Marina Cotes Prado

**17:45-18:00 R-239 TREE RESPONSE AND MANAGEMENT OF THE
EMERGENT DISEASE IN NORTHEASTERN NORTH AMERICA: WHITE PINE
NEEDLE DAMAGE (WPND) ASSOCIATED WITH CHANGES IN PATHOGEN
PRESSURE IN RESPONSE TO CLIMATE CHANGE**

Oral

Isabel Munck Alvarez, Heidi Asbjornsen, Kirk Broders, Cameron McIntire, Stephen
Wyka

18:00-18:30 Pausa Café-Posters (151-200)

18:30-20:00 Asamblea de la SEF

[Jueves, 22 de Septiembre de 2016](#)

9:00-11:00 *Sesión Plenaria IV*

Moderadores: Nieves Capote / Francis Cazorla

09:00-10:00 Ponencia: Tolga Osman Bozkurt (Imperial College London)
Physiological plasticity in plant-fungal interactions

**10:00-11:00 Ponencia Antonio de Vicente (U. de Malaga) La necrosis apical del
mango, un recorrido desde la Patología Vegetal a la Genómica**

11:00-12:00 Pausa Café-Posters

12:00-14:00 *Sesión Plenaria V*

Moderadores: Diego Romero / Blanca Landa

**12:00-13:00 Ponencia María Saponari (CNR) Recent advances on the Xylella
fastidiosa epidemic in olives in southern Italy**

13:00-13:15 R-138 NUEVA METODOLOGÍA BASADA EN MINISECUENCIACIÓN O SNAPSHOT MÚLTIPLE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TODAS LAS SUBESPECIES DE XYLELLA FASTIDIOSA Y GENOTIPOS DE XYLELLA FASTIDIOSA SUBSP. PAUCA

Oral

Miguel Montes Borrego, María Saponari, Leonardo de la Fuente, Blanca B. Landa del Castillo

13:15-13:30 R-103 CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS CEPAS DE PSEUDOMONAS SYRINGAE AISLADAS DE KIWI Y CON BAJA VIRULENCIA.

Oral

Félix Morán Villamizar, Elena Landeras, Javier Peñalver, Adela Monterde, Clara Morente, Adela Abelleira, Ana Jesús Gonzalez, María Milagros López

13:30-13:45 R-164 LA FORMULACIÓN DEL AGENTE DE BIOCONTROL BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS CPA-8, UN ANTAGONISTA FRENTE A MONILINIA SPP., COMO PUNTO CLAVE EN EL DESARROLLO DE UN BIO-FUNGICIDA

Oral

Amparo Gotor-Vila, Josep Usall, Rosario Torres, Cristina Solsona, Maribel Abadías, Neus Teixidó

13:45-14:00 R-288 NUEVA HERRAMIENTA PARA EL BIOCONTROL DE RALSTONIA SOLANACEARUM: ACCIÓN LÍTICA DE BACTERIÓFAGOS ESPECÍFICOS EN AGUA DE RIEGO

Oral

María Belén Álvarez Ortega, María Milagros López González, Elena González Biosca

14:00-16:00 Comida-Posters (Todos)

16:00-20:00 Sesiones Simultáneas III

-Teatro Principal (C)

Moderadores sesión I: Control

Antonieta De Cal / Alejandro Pérez García

16:00-16:15 R-115 LOSS OF CPLS GENE FUNCTION LEADS TO HYPERVIRULENCE IN THE MAIZE PATHOGEN COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA

Oral

José María Sanz Martín, Riccardo Baroncelli, Michael R. Thon, Serenella A. Sukno

16:15-16:30 R-118 LA FAMILIA GÉNICA FTF REGULA LA VIRULENCIA Y LA EXPRESIÓN DE LOS EFECTORES SIX EN FUSARIUM OXYSPOURUM

Oral

Jonathan Niño Sánchez, Virginia Casado del Castillo, Vega Tello Hernández, José Javier de Vega Bartol, Brisa Ramos Martínez, Serenella Sukno, José María Díaz Mínguez

16:30-16:45 R-120 P0212 INDUCES RESISTANCE IN PEPPER AGAINST VERTICILLIUM DAHLIAE

Oral

Marta Lois, Javier Veloso, Tania García, Inmaculada Larena, José Díaz

16:45-17:00 R-289 RESISTENCIA FRENTE A COLLETOTRICHUM ACUTATUM EN FRUTOS DE FRESA: PRUEBA DE FUNCIÓN DE GENES MEDIANTE ENSAYOS DE EXPRESIÓN TRANSITORIA

Oral

José Javier Higuera Sobrino, María Isabel Arjona Girona, Francisco Amil Ruiz, José Garrido Gala, Aymam Lekhbou, Juan Manuel Arjona López, Enriqueta Moyano, Juan Muñoz Blanco, Carlos José López Herrera, José Luis Caballero

17:00-17:15 R-201 EFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUELO EN LA VIRULENCIA DE P. CINNAMOMI EN RAÍZ DE ALCORNOQUE

Oral

Mario González Romero, José Manuel García Lavado, Pablo Homet Gutierrez, Lorena Gómez Aparicio, María Ángeles Romero Martín

17:15-17:30 R-203 EFECTO DE LA INFECCIÓN POR MICOVIRUS EN LA VIRULENCIA Y ACTIVIDAD DE LACASAS DE FUSARIUM CIRCINATUM.

Oral

Emigdio Jordán Muñoz Adalia, J. Asdrúbal Flores Pacheco, Pablo Martínez Álvarez, Jorge Martín García, Mercedes Fernández Fernández, Julio Diez Casero

-Diputación Provincial (B)

Moderadores sesión II: Epidemiología / Control

María A. Ayllón / Ana Bonaterra

16:00-16:15 R-085 EPIDEMIAS DEL VIRUS DEL RIZADO DE LA HOJA DEL TOMATE DE NUEVA DELHI EN LA CUENCA MEDITERRÁNEA OCCIDENTAL: DISPERSIÓN DE UNA CEPA CON BAJA PATOGENICIDAD EN TOMATE Y RIESGO PARA LOS CULTIVOS DE HORTALIZAS.

Oral

Isabel María Fortes Cuenca, Sonia Sánchez Campos, Elvira Fiallo Olivé, Juan Díaz Pendón, Jesús Navas Castillo, Enrique Moriones Alonso

16:15-16:30 R-095 ANALISIS DE LOS COSTES QUE LIMITAN LA EXPANSIÓN DE LA GAMA DE HUÉSPED EN LOS TOBAMOVIRUS

Oral

Manuel Moreno Pérez, Sayanta Bera, Aurora Fraile, Fernando García-Arenal

16:30-16:45 R-175 DESARROLLO DE UN MODELO DE PREDICCIÓN DE RIESGO DE LA MANCHA BACTERIANA DE LOS FRUTALES DE HUESO Y ALMENDRO

Oral

Gerard Morales Nicolás, Isidre Llorente Cabratosa, Emilio Montesinos Seguí, Concepció Moragrega García

16:45-17:00 R-200 EVALUACIÓN DE LA TRANSMISIÓN DE CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM EN DIFERENTES CULTIVOS HORTÍCOLAS EN ESPAÑA.

Oral

Carlos Andrés Antolinez Delgado, Aranzazu Moreno Lozano, Alberto Fereres Castiel

17:00-17:15 R-230 ANÁLISIS GENÉTICO DE LAS DIFERENCIAS DE AGRESIVIDAD ENTRE AISLADOS DE CAMPO DE BOTRYTIS CINEREA RECOGIDOS SOBRE VID

Oral

Ernesto Pérez Benito, Wilson Acosta Morel, Francisco Anta, José María Díaz Mínguez, Michael Thon

17:15-17:30 R-223 DINÁMICA DE POBLACIÓN DE MELOIDOGYNE INCOGNITA Y PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN DE TOMATE SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE.

Oral

Ariadna Giné Blasco, Francisco Javier Sorribas Royo

-Abilio Calderón (A)

Moderadores sesión III: Etiología y Diagnóstico

Moderadores sesión

Josep Armengol/Lluís Palou

16:00-16:15 R-062 DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE F. SOLANI EN SUELO Y PLANTAS DE FRESA MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL Y DETERMINACIÓN DE SU DIVERSIDAD

Oral

Nieves Capote Maínez, Eduardo de la Lastra Alcalde, Ana Aguado Puig, María José Basallote Ureba

16:15-16:30 R-126 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, PATOGENICA Y MOLECULAR DE COLLETOTRICHUM ACUTATUM, AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS DEL ALMENDRO.

Oral

Ana López-Moral, M^a Carmen Raya, María Lovera, Francisca Luque, Octavio Arquero, Antonio Trapero

**16:30-16:45 R-185 CUANTIFICACIÓN DEL NIVEL DE INÓCULO AÉREO
MEDIANTE QPCR APLICADA A TRAMPAS DE ESPORAS**

Oral

Mónica Berbegal, Sergio Arizmendi, Santiago Català, Antonio Vicent, José Luis Mira,
Josep Armengol

**16:45-17:00 R-211 GENÓMICA COMPARATIVA Y FUNCIONAL DE TRES
AISLADOS CON DIFERENTES ESTILOS DE VIDA DEL HONGO
PLECTOSPHERELLA CUCUMERINA**

Oral

Antonio Muñoz Barrios, Irene Del Hierro García, Sandra Díaz González, Brisa Ramos
Martínez, Gemma López García, Pablo González-Melendi de León, Soledad
Sacristán Benayas, Antonio Molina Fernández

**17:00-17:15 R-031 ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES DE
POSCOSECHA DEL NÍSPERO (ERIOBOTRYA JAPONICA (THUNB.) LINDL. CV.
ALGERIE) EN ALICANTE**

Oral

Lluís Palou Vall, Paloma Sánchez Torres, Clara Montesinos Herrero, Verònica
Taberner Roselló

**17:15-17:30 R-090 AISLAMIENTO DE ESPECIES DE PHYTOPHTHORA Y
PHYTOPYTHIUM EN VIVEROS DE AGUACATE Y EMBALSES DE RIEGO DE LAS
ISLAS CANARIAS**

Oral

Cristina Rodríguez Padrón, Ana Rodríguez Pérez, Felipe Siverio de la Rosa

17:30-18:00 Pausa Café-Posters

18:00-19:00 Conferencia de Clausura

Moderadores: Vicente Pallás/Jesús Murillo

Ponencia: Ricardo Flores (CSIC)

21:00 Cena de Gala

Viernes. 23 de Septiembre de 2016

09:00 a 17:00 h. aprox. Visita Técnica. Viaje de campo

Visita a una zona con pino resinero (*Pinus pinaster*) afectado por decaimiento, y viñedos con diversas patologías en la Finca la Ventosilla (Burgos). Visita a Bodega, y cata de vinos. Comida en Mesón de la Zona.

Programa:

10:00 Llegada a la Ventosilla y visita de pinar afectado

11:00 Visita a bodega

12:00 Cata de dos vinos PRADOREY con picoteo de ibéricos, Degustación de Aceite y Queso PRADOREY

12:30 Visita a Viñedos con oidio, mildiu con técnico de finca

LISTADO DE PANELES

Código	TÍTULO	Autores I
R-0001	EVALUACIÓN DEL SISTEMA "NATUGRO™" SOBRE UNA POBLACION DE MELOIDOGYNE JAVANICA Y SOBRE LA COSECHA DE UN CULTIVO DE TOMATE BAJO PLÁSTICO.	Magda Galeano Revert, Jesús Moreno Salmerón, María Victoria Rodríguez Figueredo, Julian Rodríguez , Luis Santiago Carrillo, Alicia Ruiz Rodríguez, Juan Antonio Ruiz , José Eduardo Belda Suarez
R-0002	EVALUACIÓN DE VARIOS PRODUCTOS A BASE DE QUITINA PARA EL CONTROL DE MELOIDOGYNE JAVANICA (TREUB, 1885) CHITWOOD, 1949 Y SU EFECTO COMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO SOBRE PLANTAS DE TOMATE	Magda Galeano Revert, Jesús Moreno Salmerón, José Eduardo Belda Suárez
R-0003	EFFECTO DE PISOLITHUS ARHIZUS Y SUILLUS LUTEUS EN LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO RESINOSO EN PLÁNTULAS DE PINO MARÍTIMO	Joseba Sanchez Zabala, Marta Otero Nalbán, Noemí Martín Rodrigues, Kepa Txarterina Urkiri, Josu Azpitarte Andrinua, Isabel Salcedo Larraalde, Miren Karnele Duñabeitia Aurrecochea
R-0004	ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN NATURAL SOBRE LA RESISTENCIA DE PINUS RADIATA A LA INFECCIÓN POR FUSARIUM CIRCINATA EN VIVERO	Marta Otero Nalbán, Joseba Sanchez Zabala, Noemí Martín Rodrigues, Kepa Txarterina Urkiri, Fernando Azurmendi , Isabel Salcedo Larraalde, Miren Karnele Duñabeitia Aurrecochea
R-0010	DESINFESTACIÓN DEL AGUA A TRAVÉS DEL RIEGO PARA PREVENIR LA INCORPORACIÓN DE V. DAHLIAE AL SUELO	Francisco Jesús Gómez Gálvez, Juan Carlos Hidalgo Moya, Javier Jesús Hidalgo Moya, Victorino Vega Macías, Dolores Rodríguez Jurado
R-0011	EFFECTO DE LA APLICACIÓN AL SUELO DE DESINFESTANTES QUÍMICOS SOBRE EL PATOSISTEMA OLIVO-VERTICILLIUM DAHLIAE	Francisco Jesús Gómez Gálvez, Dolores Rodríguez Jurado
R-0016	ORPRAMED: UN PROYECTO EUROPEO SOBRE EL RIESGO DE INTRODUCCIÓN DE LA CANCROSIS BACTERIANA DE LOS CÍTRICOS EN EL ÁREA MEDITERRANEA A PARTIR DE PLANTAS RUTÁCEAS NO CÍTRICAS	Jaime Cubero Dabrio, Vitoria Catara , Olivier Pruvost , Concetta Licciardello , Giusppe Timpanaro , Yesim Aysan , Raziye Cetinkaya-Yildiz , Paola Caruso
R-0018	FUNGAL ENDOPHYTES OF POPULUS ALBA DECREASE DISEASE SEVERITY FROM THE SHOOT BLIGHT PATHOGEN VENTURIA TREMULAE	Clara Martínez Arias, David Macaya Sanz, Juan Antonio Martín García
R-0020	EVALUACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE BISCOGNIAUXIA MEDITERRANEA Y FUSARIUM MONILIFORME	Oscar Santamaría Becerril, Santiago Lledó Gómez, Sara Morales Rodrigo, María José Poblaciones Suárez-Bárcena
R-0021	CONTROL QUÍMICO DE LA TELARAÑA DEL CHAMPIÑÓN CAUSADA POR CLADOBOTRYUM MYCOPHILUM	Jaime Carrasco , María Jesús Navarro , Milagrosa Santos , Francisco J. Gea
R-0023	CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE CLADOBOTRYUM MYCOPHILUM, AGENTE CAUSAL DE LA TELARAÑA EN CULTIVOS DE SETA DE CARDO (PLEUROTUS ERYNGII)	Francisco J. Gea , Jaime Carrasco , Laura M. Suz , María Carmen Lainez , María Jesús Navarro
R-0024	COMPATIBILIDAD Y EFICACIA DEL USO COMBINADO DE LOS BIOFUNGICIDA BACILLUS SUBTILIS Y PENICILLIUM FREQUENTANS PARA SU APLICACIÓN EN EL CONTROL INTEGRADO DE LA PODREDUMBRE PARDA DE FRUTALES DE HUESO	Belén Guijarro Díaz-Otero, Inmaculada Larena Nistal, Neus Teixido , Paloma Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina
R-0026	CARACTERIZACIÓN DE LAS CURVAS DOSIS-RESPUESTA P. FREQUENTANS/MONILINIA SPP: EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN PATÓGENO/ANTAGONISTA EN LA INCIDENCIA DE ENFERMEDAD	Belén Guijarro Díaz-Otero, Inmaculada Larena Nistal, Paloma Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina, Laura Hernández

R-0027	MEJORA DE LA EFICACIA EN EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE PARDAS DE FRUTALES DE HUESO DEL BIOFUNGICIDA PF909 MEDIANTE LA INCORPORACION DE AGENTES TENSOACTIVOS, ADHERENTES Y MOJANES.	Belén Guijarro Díaz-Otero, Inmaculada Larena Nistal, Laura Robles Montalvo, Paloma Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina, Laura
R-0028	ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA PODREDUMBRE PARDAS CAUSADA POR MONILINIA FRUCTICOLA EN INFECCIONES VISIBLES Y LATENTES	Carlos Garcia Benitez, Paloma Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina, Blanca Fontaniella
R-0029	TASA DE ACTIVACIÓN DE LAS INFECCIONES LATENTES DE MONILINIA SPP. EN NECTARINA DURANTE EL PERIODO DE POST-COSECHA.	Carlos Garcia Benitez, Josep Usall Rodie, Paloma Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina
R-0030	IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE FUSARIUM SOLANI PROCEDENTES DE PLANTAS Y SUELOS DE VIVEROS DE FRESA	Maria Villarino Perez, Raquel Castillo , Alicia Perea , Lara Teran , Javier San Juan , Inmaculada Larena , Paloma Melgarejo , Antonieta De Cal
R-0033	LATE WILT OF MAIZE AS AFFECTED BY IRRIGATION MANAGEMENT, AND TISSUE EFFECT OF THE CAUSAL FUNGUS HARPPOHORA MAYDIS	Carmen Maria Ortiz Bustos, Alvaro Lopez Bernal, Luca Testi , Esteban Alcántara Vara, Leire Molinero Ruiz
R-0034	IDENTIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS CAUSANTES DE LA PODREDUMBRE PARDAS EN MELOCOTÓN: ANÁLISIS DEL SECRETOMA DE MONILINIA SPP.	Silvia Rodríguez Pires, Eduardo Antonio Espeso Fernández, Paloma Melgarejo Nardiz, Antonieta De Cal Cortina
R-0035	COMPOST DE ALPERUJO Y TRICHODERMA EN EL SUSTRATO DE CULTIVO MEJORAN LA SALUD DE LA PLANTA Y LA RESISTENCIA FRENTE A BOTRYTIS CINEREA	Elena Fernández Gómez, Isabel Trillas Gay, Guillem Segarra Braunstein
R-0036	CARACTERIZACIÓN Y PATOGENICIDAD DE ESPECIES DE BOTRYOSPHERACEAE ASOCIADAS A LA SECA DE RAMAS Y MUERTE DE ALMENDROS EN LA ISLA DE MALLORCA	David Gramaje Perez, Diego Olmo Garcia, Maela Leon , Josep Armengol Forti
R-0037	PATHOGENICITY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF AN INTERNATIONAL COLLECTION OF VERTICILLIUM DAHLIAE, PATHOGEN OF SUNFLOWER	Sara González Fernández, Alberto Martín Sanz, Leticia A Egea , Pilar Hernandez , Leire Molinero Ruiz
R-0038	CONSTRUCCIÓN DE UNA COLECCIÓN DE CEPAS DE PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. SYRINGAE ASOCIADAS A MANGO PARA SU USO EN ESTUDIOS COMPARATIVOS	Francesca Aprile Mancha, Eva Arrebola Diez, Francisco Manuel Cazorla López, Antonio De Vicente Moreno
R-0039	COST ACTION FA1407: APPLICATION OF NGS FOR THE STUDY AND DIAGNOSIS OF PLANT VIRAL DISEASES IN AGRICULTURE	Antonio Olmos Castelló, Ana Belén Ruiz García, Angelantonio Minafra , Maja Ravnika , René Van Der Vlugt , Christina Varveri , Thierry Wetzel , Sebastien Massart
R-0040	MODELLING THE ACCURACY OF THREE DETECTION METHODS OF GRAPEVINE LEAFROLL-ASSOCIATED VIRUS 3 IN DORMANT PERIOD BY A BAYESIAN APPROACH	Ana Belén Ruiz Garcia, Carmen Martínez Manjavacas, Eduardo Vidal Izquierdo, Antonio Olmos Castelló
R-0041	CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS PRIMEROS AISLADOS DE LITTLE CHERRY VIRUS 1 EN ESPAÑA	Carmen Martínez Manjavacas, Ana Belén Ruiz García, Remedios Santiago Merino, María Teresa García Becedas, Nuria De Prado Ordás, Antonio Olmos Castelló
R-0044	NUEVOS AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE LA VERTICILLOSIS: UN VIAJE DESDE LA RIZOSFERA DE OLIVO AL GENOMA BACTERIANO	Carmen Gómez-Lama Cabanás, David Ruano Rosa, Antonio Valverde Corredor, Jesús Mercado Blanco
R-0046	PSEUDOMONAS VIRIDIFLAVA, BIOTIPOS 1 Y 2 EN JUDÍA Y MALAS HIERBAS ASOCIADAS AL CULTIVO	Ana J. González Fernández, Ana M. Fernández Sanz, M. Rosario Rodicio Rodicio
R-0047	PSEUDOCERCOSPORA GRISEOLA EN CULTIVOS DE JUDÍA DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS	Ana J. González Fernández, Elena Landeras Rodríguez, Máximo Braña Argüelles, Estefanía Trapiello Vázquez

R-0048	EL QUITOSANO AUMENTA EL PARASITISMO DE HUEVOS DEL NEMATODO MELOIDOGYNE JAVANICA POR EL HONGO NEMATÓFAGO POCHONIA CHLAMYDOSPORIA E INDUCE SUS PROTEASAS	Nuria Escudero Benito, Sebastio Rodrigo Ferreria , Federico Lopez Moya, Miguel Ángel Naranjo Ortiz, Ana Marin Ortiz, Christopher R. Thornton , Luis Vicente Lopez Llorca, Nuria Escudero
R-0050	EVALUACIÓN DE RUTAS ALTERNATIVAS DE SÍNTESIS DE IAA EN EL COMPLEJO PSEUDOMONAS SYRINGAE	Adrián Pintado Calvillo, Isabel Pérez Martínez, Cayo Ramos Rodríguez
R-0051	HACIA LA IDENTIFICACIÓN DEL REGULÓN HRPL EN PSEUDOMONAS SAVASTANOI	Alba Moreno Pérez, Jesús María Murillo Martínez, Leire Bardaji Goikoetxea, Cayo Juan Ramos Rodríguez
R-0052	BASIDIOMICETOS ASOCIADOS A LA MADERA DE LA VID EN EUROPA	Vicente González García, Michael Fischer
R-0053	BÚSQUEDA DE FUENTES NATURALES DE RESISTENCIA A LA FUSARIOSIS VASCULAR (FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. NIVEUM) EN CULTIVARES DE SANDÍA (CITRULLUS LANATUS)	Vicente González García, Odibert Cothiere , Ester Sales , Celia Montaner , Ana Garcés Claver
R-0054	UTILIZACIÓN DE TÉS DE COMPOST CON MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS PARA SUPRESIÓN DE ENFERMEDADES DE PLANTAS	Francisco Marín Andrés, Luis Santiago Carrillo, Alicia Ruiz Rodríguez, Jose Eduardo Belda Suarez
R-0056	PODER PATÓGENO DE VARIAS ESPECIES DE PHYTOPHTHORA AISLADAS DE PLANTAS Y DE AGUAS SUPERFICIALES SOBRE ESPECIES DE PLANTAS HORTÍCOLAS.	Ainhoa Fernández Martín, Marina Poyatos Martínez, Antonio Aguilera Lirola, Ana Pérez Hernández, Lorenzo Giménez Segura, Julio Gómez Vázquez, Miguel De Cara García
R-0057	SUSCEPTIBILIDAD DE VARIAS HORTÍCOLAS A AISLADOS DE PHYTOPHTHORA CAPSICI OBTENIDOS DE PIMIENTO Y CALABACÍN.	Lorenzo Giménez Segura, Marina Poyatos Martínez, Ainhoa Fernández Martín, Julio Gómez Vázquez, Miguel De Cara García
R-0058	EVALUACIÓN DE ALTERNATIVAS AL USO DE PROCLORAZ PARA EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE VERDE DEL AJO CAUSADA POR PENICILLIUM ALLII.	María Arias Martín, Laura Gálvez Patón, Alba Martínez Doncel, Daniel Palmero Llamas
R-0059	PUESTA A PUNTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE AISLADOS DE FUSARIUM PROLIFERATUM MEDIANTE EL USO DE ANÁLISIS DE IMAGEN	Laura Gálvez Patón, Pilar Barreiro Elorza, María Arias Martín, Daniel Palmero Llamas
R-0060	COMPOSICIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DE BIOFILMS EN XANTHOMONAS ARBORICOLA PV. PRUNI	Pilar Sabuquillo Castrillo, Jaime Cubero Dabrio
R-0064	LA RIZOBACTERIA PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS PCL1606 NO PRESENTA ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO COMO MECANISMO ADICIONAL DE BIOCONTROL	Sandra Tienda Serrano, Carmen Vida Hinojosa, Diez Eva Arrebola, Antonio De Vicente Moreno, Francisco Cazorla López
R-0065	RESULTADOS INICIALES SOBRE LA EFECTIVIDAD DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO (SA) COMO TRATAMIENTO CONTRA LA ENFERMEDAD DE LA TRISTEZA DEL PIMIENTO DESARROLLADA POR EL HONGO PHYTOPHTHORA PARASITICA DASTUR (1913)	Jerónimo Del Moral Martínez, Francisco Espinosa Borreguero, José Del Moral De La Vega
R-0066	EL DIAGNÓSTICO INTEGRATIVO DE NEMATODOS LONGIDORIDOS REVELA UNA EXTRAORDINARIA DIVERSIDAD Y PREVALENCIA EN OLIVO EN ANDALUCÍA	Antonio Archidona Yuste, Juan A. Navas Cortés, Carolina Cantalapiedra Navarrete, Juan E. Palomares Rius, Pablo Castillo
R-0068	ÍNDICE DE AGALLAS DEL CULTIVO PREVIO Y DENSIDADES PRE-TRASPLANTE DE MELOIDOGYNE INCOGNITA COMO ESTIMADORES PREDICTIVOS DE LAS PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN EN CALABACÍN.	María Dolores Vela Delgado, Soledad Verdejo Lucas, Miguel Francisco Talavera Rubia
R-0069	SELECCIÓN IN VITRO DE BACTERIAS COMO POSIBLES AGENTES DE BIOCONTROL DE FUSARIUM SOLANI PATÓGENO DE FRESA	Dulce Nombre Rodríguez Navarro, Nieves Capote Maínez, María José Basallote Ureba
R-0070	EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE VARIETADES COMERCIALES DE FRESA A FUSARIUM SOLANI	María Dolores Vela Delgado, Nieves Capote Maínez, José María Melero Vara, María José Basallote Ureba

R-0072	LA BIOSOLARIZACIÓN CON DIFERENTES ENMIENDAS ORGÁNICAS REDUCE LA INCIDENCIA DE LOS PATÓGENOS DEL SUELO EN CULTIVOS DE ALCACHOFA	Victoriano Martínez Alarcon, Carmen Maria Lacasa Martínez, Adriana Esteban Lopez, Pedro Fernandez Molina, Bartolome Ramirez Carreras, Alberto Jara , Mari Carmen Martínez Lluch, Maria Del Mar Guerrero Diaz, Alferdo Lacasa Plasencia
R-0073	BÚSQUEDA DE LOS DETERMINANTES GENÉTICOS DEL TSWV QUE SUPERAN LA RESISTENCIA CONFERIDA POR EL GEN TSW EN PIMIENTO	Carmelo López Del Rincón, Carlos Costa Jover, Mireya Martínez Pérez, Cristina Sáez Sánchez, Luis Galipienso Torregrosa, Luis Rubio Migúelez, Frederic Aparicio Herrero, José Antonio Darós Arnau
R-0074	LA BIOSOLARIZACIÓN CON SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES REDUCE LA INCIDENCIA DE LOS PATÓGENOS DEL SUELO EN INVERNADEROS DE PIMIENTO	Victoriano Martínez Alarcon, Carmen Maria Lacasa Martínez, Fulgencio Sanchez , Caridad Ros Ibañez, Mari Carmen Martínez Lluch, Maria Del Mar Guerrero Diaz, Paula Serrano Perez, Mari Carmen Rodriguez Molina, Alferdo Lacasa Plasencia
R-0075	DIVERSIDAD DE GENOMAS MITOCONDRIALES EN XIPHINEMA, LONGIDORUS Y PARALONGIDORUS (NEMATODA: LONGIDORIDAE)	Juan Emilio Palomares Rius, Carolina Cantalapiedra Navarrete, Antonio Archidona Yuste, Vivian C. Blok , Pablo Castillo
R-0076	EFICACIA DE LA DESINFECCIÓN REITERADA CON DIMETIL DISULFURO PARA EL CONTROL DE MELOIDOGYNE EN CULTIVOS DE TOMATE	Caridad Ros Ibañez, Mari Angeles Hernandez Colucho, Carmen Maria Lacasa Martínez, Victoriano Martínez Alarcon, Alfredo Lacasa Plasencia, Laurence Gutierrez , Maria Jesus Zanon
R-0077	EVALUACIÓN DE LA ALTERNANCIA DE FUENTES DE RESISTENCIA GENÉTICA PARA EL CONTROL DE MELOIDOGYNE INCOGNITA EN INVERNADEROS DE PIMIENTO	Fulgencio Sanchez Solana, Victoriano Martínez Alarcon, Carmen Maria Lacasa Martínez, Maria Del Mar Guerrero Diaz, Ana Hernandez Piñera, Elena Sanchez Lopez, Josefa Gomariz Perez, Jeronimo Torres Corcuera, Caridad Ros Ibañez, Alfredo Lacasa Plasencia
R-0081	EVALUACIÓN DE TRICHODERMA SPP. FRENTE A RHIZOCTONIA SOLANI EN EL CRECIMIENTO DE LA PLANTA DE JUDÍA	Sara Mayo Prieto, Álvaro Rodríguez González, Óscar González López, Alicia Lorenzana De La Varga, Guzmán Carro Huerga, Mª Piedad Campelo Rodríguez, Santiago Gutiérrez Martín, Pedro A. Casquero Luelmo
R-0082	MARCADORES VISUALES DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE PLANTAS BASADOS EN LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS COLOREADOS	José Antonio Darós Arnau, Eszter Majer , Briardo Llorente , Manuel Rodríguez Concepción
R-0083	DETECCIÓN DE PATÓGENOS MEDIANTE CIRCUITOS REGULADORES EN PLANTAS	José Antonio Darós Arnau, María Teresa Cordero Cucart, Aranzazu Rosado Pérez, Alberto Carbonell Olivares, Inmaculada Monzó Donat, Verónica Aragonés Blasco, Alfonso Jaramillo , Guillermo Rodrigo Tárrega
R-0087	EFFECTS OF SIMULTANEOUSLY ELEVATED TEMPERATURE AND CO2 LEVELS ON INFECTIONS BY DIFFERENT POSITIVE-SENSE RNA VIRUSES OF A COMMON HOST; A PROCEDURE TO COMPARE VIRAL LEVELS BETWEEN PLANTS GROWN UNDER AMBIENT CONDITIONS THAT AFFECT THEIR SIZE DIFFERENTLY	Francisco Javier Del Toro Serna, Farshad Rakhshandehroo , Beatriz Larruy García, Emmanuel Aguilar Parras, Francisco Tenllado Peralo, Tomas Canto Ceballos
R-0088	ENSAYO DE EFICACIA DE PRODUCTOS PARA EL CONTROL DE AMARILLOS EN ZANAHORIA	Santiago Perera González, Jonathan Molina Hernández, Felipe Siverio De La Rosa
R-0089	DETECCIÓN DE PHYTOPHTHORA NICOTIANAE Y GEOTRICHUM SP. ASOCIADOS A PODREDUMBRES DEL COGOLLO EN PIÑA TROPICAL	Cristina Rodríguez Padrón, Felipe Siverio De La Rosa
R-0091	CHARACTERIZATION OF AN UNCLASSIFIED MYCOVIRUS FROM VERTICILLIUM DAHLIAE AND ANALYSIS OF ITS TRANSMISION BETWEEN DEFOLIATING AND NON-DEFOLIATING ISOLATES	M Carmen Cañizares Nolasco, Eduardo Ostos Garrido, Francisco Javier López Escudero, Encarnación Pérez Artés, M Dolores García Pedrajas

R-0092	TRANSCRIPTOMA HAUSTORIAL DE PODOSPAERA XANTHII. RETOS EN MUESTRAS DE DIFICIL AISLAMIENTO Y ARN DEGRADADO	Alvaro Polonio Escalona, Jesús Martínez Cruz, Antonio De Vicente Moreno, Alejandro Pérez García
R-0094	CONSTRUCTION OF AN INFECTIOUS CLONE OF BEAN RUGOSE MOSAIC VIRUS USING ONE-STEP GIBSON ASSEMBLY	Taise Bijora , Tatsuya Nagata , Rosana Blawid , Eliezer Souto Rodrigues
R-0097	UN MODELO PARA ESTIMAR LA DINÁMICA DE LAS ASCOSPORAS DE MYCOSPHAERELLA NAWAE EN LA HOJARASCA DE CAQUI EN CONDICIONES DE CLIMA MEDITERRANEO	Antonio Vicent Civera, José Luis Mira Vidal, Antonio López Quilez, David Valentin Conesa Guillén, Joaquín Martínez Minaya
R-0098	IMPLICACIÓN DE DISTINTAS QUITÍN SINTASAS DEL PATÓGENO DE FRUTOS CÍTRICOS PENICILLIUM DIGITATUM EN LA INTEGRIDAD DE SU PARED CELULAR, VIRULENCIA Y SENSIBILIDAD A COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS	Jose F. Marcos López, Mónica Gandía Gómez
R-0101	QUIMIORRECEPTORES DE DICKEYA DADANTII Y PSEUDOMONAS SYRINGAE IMPLICADOS EN LA INFECCIÓN	Jean Paul Cerna Vargas, Pablo Rodríguez Palenzuela, Juan José Rodríguez Herva, Emilia López Solanilla
R-0104	CHANGES IN PLANT HORMONES, PHENOLICS AND LIGNIN INDUCED BY PO212 LEAD TO RESISTANCE TO FUSARIUM OXYSPORUM IN TOMATO	Inmaculada Larena , Yolanda Herranz , Víctor Flors , Marta Lois , Tania García , Angeles Bernal , José Díaz
R-0105	AN EXTRACT OF MORINGA OLEIFERA INDUCES RESISTANCE IN BEAN AGAINST BOTRYTIS CINEREA AND SHOWS FUNGICIDE ACTIVITY	Manuel Iglesias , Angeles Bernal , José Díaz
R-0108	BENZYLAMINOPURINE PROTECTS PLANTS AGAINST BOTRYTIS CINEREA AND PHYTOPHTHORA CAPSICI AND SHOWS FUNGICIDE ACTIVITY	Carlota Rey , María Coteló , Clara Pardiño , Tania García , Marta Lois , Javier Veloso , José Díaz
R-0109	APARICIÓN DE PLANTAS DE FRESA AFECTADAS DE FUSARIOSIS VASCULAR EN CULTIVOS EN SUELO EN LA PROVINCIA DE HUELVA (ESPAÑA)	Manuel Avilés Guerrero, Juan Bascón Fernández, María Salud Orta Cordero, Aurora Gómez Maya, Celia Borrero Vega
R-0110	EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A LA POBREDUMBRE CARBONOSA DE RAÍZ Y CORONA INDUCIDA POR MACROPHOMINA PHASEOLINA DE CULTIVARES DE FRESA EN HUELVA (ESPAÑA)	Manuel Avilés Guerrero, Antonio Refoyo Píriz, Aurora Gata Martín, Celia Borrero Vega
R-0111	EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A LA POBREDUMBRE DE RAÍZ Y CORONA INDUCIDA POR PHYTOPHTHORA CACTORUM DE CULTIVARES Y SELECCIONES AVANZADAS DE FRESA EN HUELVA (ESPAÑA)	Manuel Avilés Guerrero, Antonio Refoyo Píriz, Aurora Gata Martín, Celia Borrero Vega
R-0112	PROPIEDADES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DEL COMPOST DE ALPERUJO RELACIONADAS CON SU SUPRESIVIDAD A LA VERTICILIOSIS	Celia Borrero Vega, Aurora Gata Martín, Manuel Avilés Guerrero
R-0113	CAMBIOS EN LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE UN SUSTRATO FORMULADO CON COMPOST DE ALPERUJO QUE CONLLEVAN LA REDUCCIÓN DE SU SUPRESIVIDAD A LA VERTICILIOSIS	Celia Borrero Vega, Aurora Gata Martín, Manuel Avilés Guerrero
R-0117	FTF2 ES UN FACTOR DE VIRULENCIA EN FUSARIUM OXYSPORUM	Virginia Casado Del Castillo, Jonathan Niño Sánchez, Francisco Jorge Hernández Aparicio, Lizabeth Báez Ojeda, José María Díaz Minguéz
R-0119	EVALUACIÓN IN VITRO E IN VIVO DE ACEITES ESENCIALES (CANELA Y CLAVO) PARA CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS OPORTUNISTAS	David Sánchez Del Valle, Pedro Mediavilla Estébanez, Fernando Manuel Alves Santos
R-0121	INDUCED RESISTANCE AGAINST PHYTOPHTHORA CAPSICI IN PEPPER BY VANILLYL NONANOATE, A FO47 ELICITOR AND A BACILLUS PRODUCT	Tania García , Marta Lois , Javier Veloso , José Díaz

R-0123	SELECCIÓN DE POSIBLES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DEL FUEGO BACTERIANO ENTRE LA MICROBIOTA DEL NÍSPERO	Telma Azevedo , José Francisco Catalá Senent, Rocío Merchán , Luísa Moura , María Milagros López Instituto Valenciano De Invest, Ester Marco Noales
R-0125	DISSECTING THE MULTIFUNCTIONAL ROLE OF THE N-TERMINAL DOMAIN OF THE MELON NECROTIC SPOT VIRUS COAT PROTEIN IN RNA PACKAGING, VIRAL MOVEMENT AND INTERFERENCE WITH ANTIVIRAL PLANT DEFENCE.	Marta Serra Soriano, José Antonio Navarro Bohigues, Vicente Pallás Benet
R-0127	ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA MANCHA OCRE DEL ALMENDRO (POLYSTIGMA AMYGDALINUM) EN ANDALUCÍA Y CATALUÑA	Erick Zúñiga Rodríguez, Jordi Luque Font, Xavier Miarnau Prim, María Lovera Manzanares, Octavio Arqueró Quiles, Andrés Ollero Lara, Luis Fernando Roca Castillo, Antonio Trapero Casas
R-0128	IMPLICACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DE BIOFILMS DE BACILLUS SUBTILIS EN LA INTERACCIÓN BENEFICIOSA CON LA PLANTA.	Elena Pedrero Vega, Jesús Cámara Almirón, Alejandro Pérez García, Antonio De Vicente Moreno, Diego Romero Hinojosa
R-0131	EVALUACIÓN DE VARIAS DOSIS DE COBRE Y DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS FRENTE A LA INFECCIÓN POR PSEUDOMONAS SAVASTANOI EN OLIVO	Luis Fernando Roca , Pedro Miranda De Fuentes , Joaquín Romero , M ^a Carmen Raya , Antonio Trapero
R-0132	CARACTERIZACIÓN DE LA ORF 2B DEL VIRUS DEL MOTEADO DE LA PARIETARIA (PMOV)	Anthony Door Peeters , Mireya Martínez Perez, Carmelo Lopez Del Rincon, Vicente Pallás Benet, Frederic Aparicio Herrero
R-0133	DECAIMIENTO Y MUERTE DE OLIVOS POR ROSELLINIA NECATRIX EN EL ALENTEJO PORTUGUÉS.	Luis Fernando Roca , Joaquín Romero , M ^a Carmen Raya , Antonio Trapero
R-0135	HORIZONTAL AND VERTICAL TRANSMISSION OF THE HYPOVIRULENCE-ASSOCIATED MYCOVIRUS FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. DIANTHI VIRUS 1	Encarnación Pérez Artés, Carlos Germán Lemus Minor, Carmen Cañazares Nolasco, María Dolores García Pedrajas, Encarnación Pérez-Artés
R-0136	SIMULTANEOUS DETECTION OF CLAVIBACTER MICHIGANENSIS SUBSP. MICHIGANENSIS, PEPINO MOSAIC VIRUS AND MEXICAN PAPITA VIROID BY NON-RADIOACTIVE MOLECULAR HYBRIDIZATION USING A UNIQUE POLYPROBE	Erika Janet Zamora Macorra, Daniel Leobardo Ochoa-Martínez Martínez, Guadalupe Valdovinos-Ponce Ponce, Reyna Rojas-Martínez Martínez, Sergio Martínez Rojas, Jesus An Sánchez Navarro, Vicente Pallás Benet, Frederic Aparicio Herrero
R-0137	IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE DACTYLONECTRIA E ILYONECTRIA EN PLANTAS DE VID CON SÍNTOMAS DE DECAIMIENTO	Víctor Manuel Tolosa Almendros, María Luisa Lerma Tobarra, Purificación Castillo Ortiz, Josep Armengol Fortí, Ramona María Muñoz Gómez
R-0140	DETECCIÓN DE FUSARIUM OXYSPORUM F. SP. FRAGARIAE Y F. SOLANI, DOS IMPORTANTES PATÓGENOS EMERGENTES DE FRESA EN ESPAÑA, MEDIANTE MULTIPLEX PCR	Inmaculada Larena Nistal, Antonieta De Cal , Raquel Castillo , Yolanda Herranz , Paloma Melgarejo
R-0142	LA DESINFECCIÓN ANAERÓBICA DE SUELOS (ASD) EN PRIMAVERA EN EXTREMADURA REDUCE LA SUPERVIVENCIA E INFECTIVIDAD DE PHYTOPHTHORA NICOTIANAE EN PIMIENTO	Paula Serrano Pérez, Erin Roszkopf , Ana Del Rosario Santiago De Roldán, María Del Carmen Rodríguez Molina
R-0143	CEPAS DE BACILLUS SPP. MULTIPRODUCTORAS DE METABOLITOS ANTIMICROBIANOS EFECTIVAS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA	Jordi Cabrefiga Olamendi, Isabel Mora Pons, Emilio Montesinos Seguí
R-0144	POTENCIACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL PEPTIDO ANTIMICROBIANO BP100 MEDIANTE LISOZIMA EN EL CONTROL DE ERWINIA AMYLOVORA	Jordi Cabrefiga Olamendi, Emilio Montesinos Seguí

R-0146	CHARACTERIZATION OF RESISTANCE TO ALL CHEMICAL CLASSES OF SITE-SPECIFIC FUNGICIDES REGISTERED FOR GRAY MOLD CONTROL ON STRAWBERRIES IN SPAIN	Dolores Fernandez Ortuño, Juan Antonio Tores , Manuel Chamorro , Alejandro Perez Garcia, Antonio De Vicente
R-0148	DESARROLLO DE UN MICROARRAY DE ADN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS EN PLANTAS HORTÍCOLAS	Ana Belén López Santísima Trinidad, Anaís De Gea Hernández, Cristobal Sanchez López, Jose Antonio Pascual Valero, Margarita Ros Muñoz
R-0149	HERENCIA DE LA TOLERANCIA AL VIRUS DE LA HOJA RIZADA DEL TOMATE DE NUEVA DEHLI (TOLCNDV) EN CUCURBITA MOSCHATA	Cristina Sáez Sánchez, Cecilia Martínez Martínez, María Ferriol Molina, Cristina Esteras Gómez, Belén Picó Sirvent, Carmelo López Del Rincón
R-0150	MUERTE REGRESIVA DE RAMAS EN EL CULTIVO DEL AGUACATE Y MANGO	Carlos José López Herrera, María Isabel Arjona Girona
R-0153	SECUENCIACIÓN DEL GENOMA DEL AGENTE DE BIOCONTROL PO212 E IDENTIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN RESPONSABLE DE RESISTENCIA A CLORATO	Inmaculada Larena Nistal, Dolores Alonso , Jose María Alonso , María Villarino , Yolanda Herranz , Paloma Melgarejo , Eduardo A. Espeso
R-0155	SECUENCIA COMPLETA DE TRES AISLADOS DE GRAPEVINE RED GLOBE VIRUS (GRGV) Y EVIDENCIAS DE UNA PRESENCIA RECURRENTE Y SIMULTÁNEA DE GRAPEVINE RUPESTRIS VEIN FEATHERING VIRUS (GRVfV) EN PLANTAS DE VID	Leonardo Velasco, Enrico Cretazzo
R-0156	EVALUACIÓN DE UNA CEPA DE FUSARIUM OXYSPORUM COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO CONTRA LA VERTICILLOSIS DEL OLIVO	Antonio Mulero-Aparicio, Ángela Varo
R-0157	EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE PINUS SYLVESTRIS FRENTE AL CHANCRO RESINOSO DEL PINO (FUSARIUM CIRCINATUM)	Juan Asdrúbal Flores-Pacheco , Jordan Muñoz-Adalia , Pablo Martínez Alvarez, Jorge Martín García, Julio Javier Díez Casero, Stephen Woodward
R-0158	EFFECTO SUPRESIVO DEL COMPOST DE ORUJO DE VID FRENTE A LA VERTICILLOSIS DEL OLIVO	Antonio Mulero-Aparicio , Ángela Varo , Antonio Traepero
R-0159	EFFECTO DE LOS MICOVIRUS EN FUSARIUM CIRCINATUM: CRECIMIENTO DE LA COLONIA, GEMINACIÓN ESPORAL Y PATOGENICIDAD	Juan Asdrubal Flores-Pacheco, E. Jordan Muñoz-Adalia , Pablo Martínez Alvarez, Jorge Martín García, Valentín Pando , Julio Javier Díez Casero
R-0160	DENSIDAD DE INÓCULO DE VERTICILLIUM DAHLIAE EN LA PENÍNSULA IBÉRICA Y SU RELACIÓN CON LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO	Juan Heis , Mario Pérez-Rodríguez , Luis Fernando Roca , Francisco Javier Lopéz-Escudero
R-0161	INFLUENCIA DE LA FERTIRRIGACIÓN EN LA VERTICILLOSIS DEL OLIVO.	Mario Pérez-Rodríguez , Luis Fernando Roca , Francisco Javier López-Escudero
R-0162	MATING TYPE RATIOS AND PATHOGENY IN DIPLDIA SAPINEA (FR.) POPULATION: COMPARATIVE ANALYSIS	Tania Manzanos , Ana Aragonés , Glen Stanosz , Denise Smith , Enrique Ritter , Eugenia Iturritxa
R-0163	DETECCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE FITOPLASMAS EN ZANAHORIA Y EN EL PSÍLIDO BACTERICERA TRIGONICA EN TENERIFE	María Quintana González de Chaves, Cristina Giménez Mariño, Felipe Siverio de La Rosa
R-0165	BIOCONTROL OF FUSARIUM CIRCINATUM INFECTION IN PINUS RADIATA	Eugenia Iturritxa , Tyler Trask , Nebai Mesanza , Rosa Raposo , Margarita Elvira-Recuenco , Cheryl L. Patten
R-0166	PILIDIUM CONCAVUM, ASCOMICETO ASOCIADO A PODREDUMBRE DE RACIMO EN VITIS VINIFERA 'ALBARIÑO'	Olga Aguin Casal, Vanesa Ferreiroa Martínez, Jesus Maria González Jartín, Amparo Alfonso Ranaño, Pedro Mansilla Vázquez, María Jesus Sainz Osés
R-0167	NATIVE BACTERIA AS BIOCONTROL AGENTS OF HETEROBASIDION ANNOSUM S.S. AND ARMILLARIA MELLEAE INFECTION OF PINUS RADIATA	Nebai Mesanza , Eugenia Iturritxa , Cheryl L. Patten
R-0169	PRESENCIA DE XIPHINEMA SP., XIPHINEMA INDEX Y DE GRAPEVINE FANLEAF VIRUS (GFLV) EN PARCELAS DE REESTRUCTURACIÓN DEL VIÑEDO CASTELLANO MANCHEGO	Ramona María Muñoz Gómez, María Luisa Lerma Tobarra, Purificación Castillo Ortiz

R-0170	SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE CHANCRÓ DE LA VID CAUSADO POR ASPERGILLUS (ASPERGILLUS VINE CANCKER) EN VIÑEDOS CASTELLANO- MANCHEGOS	Ramona María Muñoz Gómez, María Luisa Lerma Tobarra, Purificación Castillo Ortiz
R-0171	EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS Y EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO CAUSADA POR COLLETOTRICHUM SPP.	Carlos Agustí-Brisach , Juan Moral , Gentian Agalliu , Luis Fernando Roca , Mario Pérez-Rodríguez , Joaquín Romero , Rodríguez Oliveira , Antonio Trapero
R-0172	ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE ETIOLOGÍA, RESISTENCIA VARIETAL Y CONTROL DE SCLEROTIUM ROLFSSII, AGENTE CAUSAL DE LA PODREDUMBRE BLANDA DE PATATA EN POSTCOSECHA	Carlos Agustí-Brisach , Luis Fernando Roca , Mª Carmen Raya , Francisca Luque , Joaquín Romero , Antonio Trapero
R-0173	VIRUSEQ, UN SERVICIO DE IDENTIFICACIÓN DE VIRUS A PARTIR DE SECUENCIAS MÚLTIPLES	Leonardo Velasco, Darío Guerrero , M. Gonzalo Claros Díaz, Enrico Cretazzo
R-0174	EFICACIA DE PRODUCTOS CON DIFERENTE MODO DE ACCIÓN EN EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA DE FRUTALES	Concepció Moragrega García, Jordi Cabrefiga Olamendi, Lidia Ruz Estevez, Beatriz Cabrcón Sangüesa, Anna Serra Landete, Isidre Llorente Cabratsosa, Emilio Montesinos Seguí
R-0176	CONTROL QUÍMICO DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL ALMENDRO BAJO DIFERENTES CONDICIONES CLIMÁTICAS	María Lovera , Octavio Arquero , Luis Fernando Roca , Mª Carmen Raya , Ana López , Antonio Trapero
R-0177	INTERACCIÓN DE AISLADOS DE BACILLUS CEREUS RESPONSABLES DE TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS CON LA BIOSFERA	María Luisa Antequera Gómez, Antonio De Vicente Moreno, Diego Romero Hinojosa, Universidad De Málaga
R-0179	HAPLOTIPOS DE 'CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM' IDENTIFICADOS EN ESPAÑA AFECTANDO A DIFERENTES UMBELÍFERAS CULTIVADAS	Ana Alfaro Fernández, Desamparados Hernández Llopis, Susana Sanjuán , Juan Carlos Ferrándiz , Isabel Font San Ambrosio
R-0180	SPIROPLASMA CITRI: DETECCIÓN MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL Y TRANSMISIÓN POR SEMILLA DE ZANAHORIA	Ana Alfaro Fernández, Isabel Ibañez Torrent, Edson Bertolini , Desamparados Hernández Llopis, Susana Sanjuán , Juan Carlos Ferrándiz , Mariano Cimbra Álvarez, Isabel Font San Ambrosio
R-0181	PHYTOPHTHORA CINNAMOMI, LA GRAN AMENAZA DE LA FLORA NATIVA CALIFORNIANA	María Socorro Serrano Moral, Matteo Garbelotto
R-0184	PRESENCIA DE MICOVIRUS EN HONGOS ASOCIADOS A AGUACATE	Leonardo Velasco, María Isabel Arjona Girona, María Teresa Ariza Fernández, Enrico Cretazzo , Carlos José López Herrera
R-0186	INFLUENCIA DE LA PODA EN LA DISEMINACIÓN DE CALOSPHERA PULCHELLA, AGENTE CAUSAL DEL CHANCRÓ DEL CEREZO	Mónica Berbegal , Abel Vidal , Josep Armengol
R-0187	ESTUDIO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN RAÍCES DE AGUACATE	María Isabel Arjona Girona, Gema Pereira Caro, José Manuel Moreno Rojas, Inmaculada Pradas , Carlos José López Herrera
R-0188	DETECCIÓN DE HONGOS DE LA FAMILIA BOTRYOSPHAERIACEAE EN PLANTAS ORNAMENTALES DE PARQUES Y JARDINES DE GALICIA	Cristina Pintos Varela, Vanesa Redondo Fernandez, Cristina Rial Martínez, Olga Aguin Casal, Vanesa Ferreiroa Martínez, Pedro Mansilla Vázquez
R-0189	EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS PARA LA PROTECCIÓN DE HERIDAS DE PODA FRENTE A LA INFECCIÓN POR ESPECIES DE BOTRYOSPHAERIACEAE EN ALMENDRO.	Diego Olmo, K.M. Fabricius, Victor Serra, David Gramaje, Josep Armengol
R-0190	EFECTO IN VITRO E IN VIVO DE EPICATEQUINA SOBRE ROSELLINIA NECATRIX	María Isabel Arjona Girona, Gema Pereira Caro, José Manuel Moreno Rojas, Carlos José López Herrera

R-0191	VALIDACIÓN Y CALIBRACIÓN DE UN MODELO EPIDEMIOLÓGICO PARA PREDECIR EL MOTEADO DEL NÍSPERO CAUSADO POR FUSICLADIUM ERIOBOTRYAE EN SICILIA	Elisa González Domínguez, Vittorio Rossi , Vittorio Farina , G. Gianguzzi , Mónica Berbegal , Josep Armengol
R-0192	PRESENCIA DE MICOVIRUS EN AISLADOS DE ROSELLINIA NECATRIX Y PHYTOPHTHORA CINNAMOMI	Juan Manuel Arjona López, María Isabel Arjona Girona, María Teresa Ariza Fernández, Enrico Cretazzo , Leonardo Velasco, Carlos José López Herrera
R-0193	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL PERÍODO DE HUMECTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO DE INFECCIONES CAUSADAS POR STEMPHYLLIUM VESICARIUM EN PLANTAS DE AJO	Mónica Berbegal , Elisa González Domínguez, Josep Armengol
R-0194	ASOCIACIÓN ENDOFITICA DE FUSARIUM CIRCINATUM CON PLANTAS DEL SUSTRATO HERBÁCEO DE PINARES DEL PAÍS VASCO	Laura Hernández , Juan Antonio Campos , Gustavo Renobales , Ignacio García , Eugenia Iturriza , Margarita Elvira-Recuenco , Rosa Raposo
R-0195	IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DE LA FAMILIA BOTRYOSPHERACEAE EN EUCALIPTOS DE GALICIA	Cristina Pintos Varela, Vanesa Redondo Fernandez, Cristina Rial Martínez, Olga Aguin Casal, Vanesa Ferreira Martínez, Pedro Mansilla Vázquez
R-0196	DETECCIÓN DE ESPECIES DE PHYTOPHTHORA EN PARQUES Y JARDINES DE GALICIA	Cristina Pintos Varela, Cristina Rial Martínez, Vanesa Redondo Fernández, Olga Aguin Casal, Pedro Mansilla Vázquez
R-0197	COMPORTAMIENTO ALIMENTICIO DE PULGONES ASOCIADO A LA TRANSMISIÓN DE VIRUS SEMIPERSISTENTES	Jaime Jiménez Ruiz, Alberto Fereres Castiel, Aránzazu Moreno Lozano
R-0198	NUEVAS FORMULACIONES PARA CANDIDA SAKE CPA-1 FORMADORAS DE RECUBRIMIENTO BIODEGRADABLE EN LA FRUTA PARA MEJORAR SU SUPERVIVENCIA Y EFECTIVIDAD BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS	Anna Carbó Torres, Rosario Torres Sanchis, Josep Usall Rodiè, Cristina Solsona Aixalà, Elena Costa Sanagustín, Neus Teixidó Espasa
R-0199	EFFECT OF TEMPERATURE ON THE ACCUMULATION OF GREMMENIELLA ABIETINA RNA VIRUS 6 AND ITS HOST, THE FUNGAL PATHOGEN GREMMENIELLA ABIETINA	Leticia Botella , Miloň Dvořák , Evva J. Vainio , Libor Jankovsky , Paolo Capretti , Jarkko Hantula , Julio J. Diez , Nicola Luchi
R-0204	MORPHOGENESIS AND VIRULENCE ARE REGULATED BY OVERLAPPED BUT DISTINCT MOLECULAR MECHANISMS IN VERTICILLIUM DAHLIAE	Jorge Luis Sarmiento Villamil, Pilar Prieto , Steven Joseph Klosterman , María Dolores García Pedrajas
R-0205	BIOCONTROL DE LA PODREDUMBRE DE RAÍZ Y CORONA DE PLANTAS DE FRESA MEDIANTE TRICHODERMA SPP.	J. Carlos Arenas Rojas, José M. Melero Vara, Carlos J. López Herrera
R-0207	INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO EN LA EVOLUCIÓN DE LAS PODREDUMBRES DE PIMIENTO CALIFORNIA	María Angeles Parra Sáez, Fulgencio Wadi Aguilar Tarbay, Juan Antonio Martínez López
R-0209	ABIOPROTECT®: SOLUCIÓN QUE INTEGRA UN PRODUCTO Y UN SERVICIO PARA LA PROTECCIÓN CRUZADA DE CULTIVOS DE TOMATE FRENTE AL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE (PEPMV)	Jesus Agüero , Julio García-Villalba , Alvaro Casado , Pedro Gomez , Antonio Mendez-Colmenero , Yolanda Hernando , Miguel A. Aranda
R-0210	PRIMERA DETECCIÓN DE PECTOBACTERIUM WASABIAE EN ESPAÑA	Francisco Javier Feria Pérez, Manuel Jesús Martín Robles, María Belén Suarez Fernández, Jose Luis Palomo Gómez
R-0212	CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y PATOGENICA DE PSEUDOCERCOSPORA CLADOSPORIOIDES, AGENTE CAUSAL DEL EMPLOMADO DEL OLIVO	Joaquín Romero , Aranzazu Avila , A Benali , Carlos Agusti-Brisach , Antonio Trapero
R-0213	ASPECTOS DE LA INFECCIÓN NATURAL Y MODELIZACIÓN DEL PERÍODO DE LATENCIA DE FUSICLADIUM OLEAGINEUM EN OLIVO	Joaquín Romero , José Ramón Viruega , Luis Fernando Roca , Francisca Gutiérrez , Juan Moral , E González-Domínguez , V Rossi , Antonio Trapero
R-0214	INFLUENCIA DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO EN LA CALIDAD DEL ACEITE	Joaquín Romero , Ana Santa-Bárbara , Juan Moral , Carlos Agusti-Brisach , Luis Fernando Roca , Antonio Trapero

R-0215	CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA, MOLECULAR Y PATOGÉNICA DE NEOFABRAEA VAGABUNDA, AGENTE CAUSAL DE LA LEPRO DEL OLIVO	Joaquín Romero , M ^a Carmen Raya , Luis Fernando Roca , Juan Moral , Antonio Trapero
R-0216	EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS Y ESTRATEGIAS DE CONTROL FRENTE A PSEUDOCERCOSPORA CLADOSPORIOIDES, AGENTE CAUSAL DEL EMPLOMADO DEL OLIVO	Joaquín Romero , Aranzazu Ávila , Carlos Agustí-Brisach , Luis Fernando Roca , Antonio Trapero
R-0217	EPIDEMIOLOGÍA Y NUEVOS HOSPEDANTES EN CAMPO DEL VIRUS DEL RIZADO DEL TOMATE DE NUEVA DELHI, TOMATO LEAF CURL NEW DELHI VIRUS (TOLCNDV)	Miguel Juárez Gómez, Pedro Gómez López, Monia Tayahi , Blanca Gosálvez Bernal, Miguel Angel Aranda Regulés
R-0219	EL EFECTOR DE PSEUDOMONA SYRINGAE HOPZ1A ACETILA AL REGULADOR POSITIVO DE DEFENSAS ZIP1	Jose S. Rufián , Javier Rueda Blanco, Diego Lopez Marquez, Carmen R. Beuzón , Javier Ruiz Albert
R-0222	EFFECTO DEL PORTAINJERTO RS 841 (CUCURBITA MAXIMA X C. MOSCHATA) SOBRE LA DINAMICA DE POBLACIÓN DE MELOIDOGYNE INCOGNITA Y PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN DE PEPINO	Ariadna Giné Blasco, Cristina Gonzalez , Lidia Serrano , Francisco Javier Sorribas Royo
R-0224	RELACIÓN ENTRE LA DENSIDAD DE INÓCULO DE VERTICILLIUM DAHLIAE Y EL PROGRESO DE LA VERTICILLOSIS EN CULTIVARES DE OLIVO CON DIFERENTE NIVEL DE RESISTENCIA	Eduardo Ostos , Carlos Trapero , Antonio Trapero , Francisco Javier López-Escudero
R-0226	SINTOMAS DE TYLCD ASOCIADOS A TOLCNDV EN VARIEDADES DE TOMATE CON RESISTENCIA A ESPECIES VIRALES CAUSANTES DE ESTA ENFERMEDAD	Ana Alfaro Fernández, Micaela Landeira , Desamparados Hernández Llopis, Jose Manuel Estévez Caparrós, Isabel Font San Ambrosio
R-0228	LA UTILIZACIÓN DE SONDAS DE RNA EN ANALISIS POR HIBRIDACIÓN MOLECULAR E IMPRESIONES DE TEJIDO GENERA FALSOS POSITIVOS EN CUCURBITACEAS	Jesús Angel Sánchez Navarro, Vicente Pallás Benet
R-0231	SUPERVIVENCIA AL CHANCRO RESINOSO Y SEQUÍA EN POBLACIONES DE PINUS PINASTER Y SU POTENCIAL ADAPTATIVO ANTE UN ESCENARIO DE CAMBIO CLIMÁTICO	Margarita Elvira Recuenco, María João Gaspar , Eugenia Iturrutxa , Ricardo Alia , Rosa Raposo
R-0232	ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD SUPRESORA DE SILENCIAMIENTO GÉNICO EN EL VIRUS 1 DEL MARCHITAMIENTO DEL HABA	Caterina Carpino , Salvatore Davino , Ezio Peri , Luis Rubio , Luis Galipienso
R-0233	DIVERSIDAD DE ESPECIES DE PYTHIUM ASOCIADAS A CASTAÑARES DE DISTINTAS REGIONES	Beatriz Mora Sala, Diego Fernández Gálvez, Santiago Catalá García, Paloma Abad Campos
R-0234	EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONTROL DE LA "MANCHA NEGRA" DE LA CHUFA	Daniilo Alvares , Carmen Armero , Anabel Forte , Luis Galipienso , Luis Rubio
R-0235	METAGENÓMICA DE HONGOS Y BACTERIAS DE LA CHUFA	Luis Galipienso , Rosa Peiró , Antonio Olmos , Luis Rubio
R-0236	DETECTION OF SOUTHERN TOMATO VIRUS BY MOLECULAR HYBRIDIZATION	Andrés Puchades , Caterina Carpino , Ana Alfaro-Fernández , M ^a Isabel Font-San-Ambrosio , Ana Espino , Puri Benito , José Serra , Josep Roselló , Salvatore Davino , José Guerri , Luis Rubio , Luis Galipienso
R-0237	EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ENTRE AISLADOS DEL VIRUS DEL BRONCEADO DEL TOMATE CAPACES O INCAPACES DE SUPERAR LA RESISTENCIA TSW DE PIMIENTO	Laura Elvira , Luis Galipienso , Carmelo López , Rosa Peiró , Luis Rubio
R-0238	PROSPECCIONES EN CAMPOS DE TOMATE Y PIMIENTO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA REVELARON UN MAYOR RIESGO DE INFECCIÓN VIRAL EN CULTIVOS CONVENCIONALES QUE EN LOS ECOLÓGICOS	Elena Lázaro , Carmen Armero , Josep Roselló , José Serra , M ^a José Muñoz , Carmelo López , Luis Galipienso , Luis Rubio

R-0240	PERFIL MICOTOXIGÉNICO DE ESPECIES DE FUSARIUM DETECTADAS EN MAÍZ FORRAJERO EN GALICIA	Jesús María González Jartin, Amparo Alfonso Rancaño, Luis Botana López, Olga Aguin Casal, Vanesa Ferreiroa Martinez, Pedro Mansilla Vázquez, Maria Jose Bande Castro, María Jesús Sainz Oses
R-0243	DISTRIBUCIÓN, SEVERIDAD E INCIDENCIA DE GREMMENIELLA ABIETINA EN MASAS DE REPOBLACIÓN DE PINUS HALEPENSIS EN CASTILLA Y LEÓN	Carmen Romeralo Tapia, Chantal Coté , Gaston Laflamme , Oscar Santamaría Becerril, Julio Diez Casero
R-0244	EPIDEMIOLOGÍA DE CANDIDATUS PHYTOPLASMA PYRI EN MELOCOTONERO	Jordi Sabaté Rabella, Miquel Artigues , Jordi Rodón Aldrufeu, Amparo Laviña Gomila, Assumpció Batlle Durany
R-0245	EPIDEMIOLOGÍA DE LOS EUROPEAN STONE FRUIT YELLOWS CAUSADOS POR CANDIDATUS PHYTOPLASMA PRUNORUM EN EL ÁREA FRUTÍCOLA DE TARRAGONA: APETENCIAS DEL VECTOR CACOPSYLLA PRUNI (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) POR DISTINTOS HUÉSPEDES.	AMPARO LAVIÑA GOMILA, M ^{te} teresa MARTINEZ-FERRER , JORDI SABATÉ RABELLA, JOSE MIGUEL CAMPOS-RIVELA , JOSE MIGUEL FIBLA QUERAL, ASSUMPCIÓ BATLLE DURANY
R-0246	VECTORES POTENCIALES DE XYLELLA FASTIDIOSA EN ZONAS VINÍCOLAS Y OLIVARERAS DEL NORDESTE ESPAÑOL. DINAMICA POBLACIONAL DE PHILAENUS SPUMARIUS.	Jordi Sabaté Rabella, Amparo Laviña Gomila, Jonatan Ortega Lazaro, Assumpció Batlle Durany
R-0247	ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LA DISPERSIÓN NATURAL DE PLUM POX VIRUS Y CITRUS TRISTEZA VIRUS BASADAS EN LA ESTIMA DEL NÚMERO DE PULGONES VIRULÍFEROS QUE VISITAN PLANTAS HUÉSPEDES.	Mariano Cambra Álvarez
R-0249	CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BOTRYTIS CINEREA NEGATIVE-STRANDED RNA VIRUS-1, UN MICOVIRUS ÚNICO RELACIONADO CON VIRUS DE PLANTAS	María A. Ayllón , Livia Donaire , Israel Pagán
R-0250	ENDOTERAPIA CON PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS PARA EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA EN FRUTALES	J. Cabrefiga , J. Barroso , E. Montesinos
R-0251	COLLAR FUNGI ASSOCIATED WITH PINUS PINASTER DECLINE IN THE IBERIAN PENINSULA	Cristina Prieto Recio, Giulia Roder , Julio Javier Diez Casero
R-0252	ESTUDIO DE LA INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE MICOSIS FOLIARES EN CLONES DE POPULUS X EURAMERICANA Y P. X INTERAMERICANA EN LA VEGA DEL RÍO ESLA (LEÓN)	Víctor Crespo Presa, Fernando Castedo Dorado, M ^a Piedad Campelo Rodríguez, M ^a Fe Marcos Fernández, Alicia Lorenzana De La Varga
R-0253	EPIDEMIOLOGÍA DE CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI CAUSANTE DE LA PROLIFERACIÓN DEL MANZANO EN EL PAÍS VASCO.	Assumpció Batlle Durany, Jordi Sabaté Rabella, Aitor Etxeandía , Dionisio Berra , Amparo Laviña Gomila
R-0255	EFICACIA DE LA SOLARIZACIÓN PARA LA ELIMINACIÓN DE PATÓGENOS EN LOS SUSTRATOS UTILIZADOS EN LOS CULTIVOS SIN SUELO	Ana Pérez Hernández, Julio Manuel Gómez Vázquez
R-0257	CUCUMIS METULIFERUS ES RESISTENTE A POBLACIONES DE MELOIDOGYNE SPP, INCLUSO VIRULENTAS AL GEN ML	Alejandro Espósito , Manuel López Gómez, María Munera , Ariadna Giné , Belén Picó , Carmina Gisbert , Vicente Medina Pilés, F Javier Sorribas
R-0259	TOWARDS PEPINO MOSAIC VIRUS VIRION-LIKE PARTICLES PRODUCTION	F. Eduardo Méndez-López , Raquel N. Sempere , M. Amelia Sánchez-Pina , Mikel Valle , Miguel A. Aranda
R-0260	OPTIMIZACIÓN DE PROTOCOLOS DE DETECCIÓN DE XANTHOMONAS ARBORICOLA PV. PRUNI EN FRUTALES DE HUESO Y ALMENDRO	Javier Peñalver Navarro, Inmaculada Navarro , María Milagros López , Ester Marco-Noales , Javier Navarro
R-0261	PEST ORGANISMS THREATENING EUROPE: PONTE	The Ponte Consortium The Ponte Consortium

R-0262	ESPECIES DE BURSAPHELENCHYS SP EN CONÍFERAS DE LA REGIÓN DE CASTILLA Y LEÓN.	Paula Zamora Brauweiler, Antonio Vicente Sanz Ros, Miriam Dueñas Fortuoso, Jorge Miranda Izcara, Beltran Álvarez Clouet, Alejandro González Casas, Eva Mayor Crespo, Juan Carlos Dominguez Alonso, Gema Pérez Escolar, Ana Belén Martín Hernández, Fernando Renedo Ferreiro, Vicente Rodríguez Fernández
R-0263	PROSPECCIONES DE HUANGLOMBING DE LOS CÍTRICOS (HLB) EN ESPAÑA: ANÁLISIS DE MATERIAL VEGETAL Y DEL VECTOR TRIOZA ERYTREA	Siverio, F.1, Marco-Noales, E.2, Bertolini, E.2,3, Teresani, G.R.2,4, Peñalver, J.2, Mansilla, P.5, Aguín, O.5, Pérez-Otero, R.5, Abelleira, A.5, Guerra-García, J.A.6, Hernández, E.1, Cambra, M.2, López, M.M.2
R-0264	ESPECIES DE BURSAPHELENCHUS SP. DETECTADAS EN MADERA DE CONÍFERAS PROCEDENTES DE INSPECCIONES EN INDUSTRIAS E INSPECCIONES EN MERCANCÍAS TRANSPORTADAS POR CARRETERA	Paula Zamora Brauweiler, Antonio Vicente Sanz Ros, Miriam Dueñas Fortuoso, Jorge Miranda Izcara, Beltran Álvarez Clouet, Alejandro González Casas, Eva Mayor Crespo, Juan Carlos Dominguez Alonso, Gema Pérez Escolar, Ana Belén Martín Hernández, Fernando Renedo Ferreiro, Vicente Rodríguez Fernández
R-0265	ACTIVIDAD DE UN LIOFILIZADO DE ESPÁRAGO FRENTE A OOMICETOS ASOCIADOS CON EL DECAMIENTO DEL ARBOLADO DE LA DEHESA	María José Basallote Ureba, Rocío Rodríguez Arcos, Carmen Barrau García
R-0266	FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO, ESPORULACIÓN Y TRANSFERENCIA DE CHV1 EN AISLADOS DE CRYPHONECTRIA PARASITICA DE CASTILLA Y LEÓN.	Paula Zamora Brauweiler, Alejandro González Casas, Miriam Dueñas Fortuoso, Roberto San Martín Fernández, Julio Javier Diez Casero
R-0268	PHOSPHITE DELAYS THE PROGRESSION OF FUSARIUM CIRCINATUM ON PINUS RADIATA: A PHYSIOLOGICAL APPROACH	Andreia Cerqueira , Artur Alves , Helder Berenguer , Barbara Correia , Pedro Monteiro , Julio Diez , Glória Pinto
R-0269	VARIATION IN PATHOGENICITY AMONG THE PHYTOPHTHORA ALNI COMPLEX ON DETACHED LEAVES, TWIGS AND BRANCHES OF ALNUS GLUTINOSA	Mohammed Masum Ul Haque , Jorge Martín García, Cristina Zamora Ballesteros, Julio Javier Diez Casero
R-0270	COST ACTION FP1406: PINE PITCH CANKER - STRATEGIES FOR MANAGEMENT OF GIBBERELLA CIRCINATA IN GREENHOUSES AND FORESTS (PINESTRENGTH)	Jorge Martín García, Steve Woodward , Renaud Ios , Eeva Vainio , Rimvydas Vasaitis , Mercedes Fernández Fernández, Jarkko Hantula , Paolo Capretti , Anna Maria Vettrano , Rosa Raposo , Andrea Vannini , Julio Diez Casero
R-0273	CONTROL INTEGRADO (BIOLÓGICO Y QUÍMICO) DE LA PODREDUMBRE BLANCA EN AGUACATE	Juan Manuel Arjona López, Sandra Tienda Serrano, María Isabel Arjona Girona, Francisco Manuel Cazorla López, Carlos José López Herrera
R-0274	IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A METALES PESADOS EN UN PLÁSMIDO CONJUGATIVO MULTIRRESISTENCIA	Myriam Echeverría Ancin, Leire Bardaji Goikoetxea, Jesús Murillo Martínez
R-0277	INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE LA PROLIFERACIÓN DEL MANZANO EN POMARADAS DE SIDRA DE ASTURIAS	Enrique Dapena De La Fuente, Aitor Somoano García, Jordi Sabaté Rabella, Marcos Miñarro Prado, Amparo Laviña Gomila, Assumpció Batle Durany
R-0278	LA SOBREEXPRESIÓN DE LA GLUTAREDOXINA CHGRXS12 DIRIGIDA AL CLOROPLASTO O EL NÚCLEO Y CITOPLASMA AMPLIFICA EL FENOTIPO DE RECUPERACIÓN DE LAS PLANTAS DE N. BENTHAMIANA INFECTADAS CON LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO.	Kumar Mariyapan , Isabel Garcia-Luque , Mª Teresa Serra

R-0279	LA RECUPERACIÓN DE PLANTAS DE N. BENTHAMIANA INFECTADAS CON LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO VA ASOCIADA PRESUNTAMENTE AL ÁCIDO SALICILICO Y A UN ESTADO DE DEFENSA ANTIVIRAL FRENTE A VIRUS HOMÓLOGOS Y HETERÓLOGOS.	Fatima Tena-Fernández , Mª Teresa Serra , Isabel Garcia Luque
R-0280	LA CEPA H DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DE LA PÁPRIKA ES CAPAZ DE INFECTAR PLANTAS DE TOMATE Y SU INFECCIÓN SE VE AFECTADA EN CONDICIONES DE SEQUIA RESPECTO AL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO.	Alfonso Bonilla Martinez, Jose Mª Becedas , Sara Arana-Peña , Félix Ortega , Isabel Garcia Luque
R-0281	LA SOBREENPRESIÓN DE LA PROTEINA TET-8 DE CAPSICUM CHINENSE PROVOCA LA INHIBICIÓN DEL MOVIMIENTO A CORTA DISTANCIA DE LOS TOBAMOVIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO Y DEL MOSAICO DEL TABACO Y PROVOCA LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA.	Paula Doblas , Fatima Tena-Fernández , Mª Teresa Alameda , Patricia Gilardi , Mª Teresa Serra , Isabel Garcia Luque
R-0284	EFFECTOS DE BIOFUMIGANTES SOBRE LA NEMATOFUNA EDÁFICA: ENSAYO DE LABORATORIO	Gonzalo Sacristán Pérez-Minayo, Casilda Olalla Gómez, Javier López Robles, F Siverio De La Rosa , Gema González López
R-0286	ENSAYO PRELIMINAR DEL USO DEL METAVANADATO SÓDICO COMO MARCADOR DE VIABILIDAD EN POBLACIONES DE GLOBODERA SP.	Gonzalo Sacristán Pérez-Minayo, Gema González López, Casilda Olalla Gómez, Javier López Robles
R-0287	"NEXT GENERATION SEQUENCING, HERRAMIENTA DE APOYO PARA CERTIFICACIÓN SANITARIA DE LA VID	Carlos Padilla Martinez, Enrico Cretazzo , Isidro Hita Gambin, Leonardo Velasco
R-0291	EFFECTO DEL SITIO EN LA COMUNIDAD FÚNGICA ENDÓFITA DE RAMILLOS DE PINO SILVESTRE EN EL NORTE DE ESPAÑA	Antonio Vicente Sanz Ros, Michael Müller , Roberto San Martín Fernández, Julio J. Diez Casero
R-0292	RISK ASSESSMENT OF EXPOSURE TO PESTICIDES THROUGH DIETARY INTAKE OF VEGETABLES TYPICAL OF THE MEDITERRANEAN DIET IN THE BASQUE COUNTRY	Amaia Ortiz Barredo, Jon Lemos , Maria Del Carmen Sampedro , Amaia De Aroño , Ramon Barrio
R-0293	REDUCCIÓN DE TRATAMIENTOS FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DEL MILDIO (PLASMAPARA VITICOLA) Y EL OIDIO (ERYSIPHE NECATOR) DE LA VID EN ÁREAS ENDÉMICAS	Ana Maria Diez Navajas, Amaia Ortiz Barredo
R-0294	FUSARIUM CIRCINATUM ISOLATES FROM NORTHERN SPAIN ARE COMMONLY INFECTED BY THREE DISTINCT TYPES OF MITOVIRUSES	Eeva Vainio , Pablo Martínez Alvarez, Diana Bezos , Jarkko Hantula , Julio Javier Diez
R-0297	EVALUACIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS Y MICOPATÓGENOS	F. Diáñez , M. Santos , R. Blanco , C. Parra , F. J. Gea
R-0298	COMPATIBILIDAD EN EL EMPLEO DE FUNGICIDAS CON TRICHODERMA SATURNISPORUM	M. Santos , F. Diáñez , J. Carrillo , F. Carretero
R-0299	LA INFECCIÓN DE LAS RAÍCES DE PINUS PINASTER POR FUSARIUM CIRCINATUM CONDUCE A UNA MENOR MORTANDAD QUE LA OBSERVADA EN PLÁNTULAS DE PINUS RADIATA	Noemí Martín-Rodrigues , Joseba Sánchez-Zabala , Marta Otero , Carmen González-Murua , Amaia Ortiz-Barredo , Miren K Duñabeitia
R-0300	DETECCIÓN DE STV EN VARIETADES COMERCIALES DE TOMATE	Font-San-Ambrosio, M.1.1, Alfaro-Fernández, A.1, Puchades, A.2, Rubio, L. 2, Estévez-Caparrós, J.M.3, Muñoz-Yerbes, M.J. 4, Espino, A.5, Benito, P.6, Monagas, J. J.6, Serra, J.2, Rosello, J.2, Hernández, D.1, Blanco, L. 1, Bosch, R. 1, Gueri, J.2, Cano-García, A.M.8, Reyes-Betancort, J. A.9, Galipienso, L. 2
R-301	REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA PARA LA DIFERENCIACIÓN DE LOS SITIOS DE ALIMENTACIÓN DE NEMATODOS FITOENDOPARÁSITOS	Díaz-Manzano, F.E.1, Cabrera, J.1, Olmo, R.1, Silva, A.C.1, Barcala, M.1, de Andrés, M.F.2, Martínez, I.1, Fenoll, C.1 y Escobar, C.1

SIMPOSIOS

INNATE IMMUNITY AND PLANT DISEASE RESISTANCE SIGNALING

- 9:00-9:30 **Carmen Castresana** (CNB). Activities of oxylipins as regulators of immunity and plant development
- 9:00-9:30 **Ane Sesma** (CBGP). Molecular mechanisms underlying fungal pathogenesis in the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae*
- 9:30-10:00 **Antonio Molina** (CBGP). Plant Innate Immunity and resistance to necrotrophic fungi: learnt lessons and agricultural applications
- 10:00-10:30 **José Miguel Ferreras** (UVA). Función de las proteínas inactivadoras de ribosomas en la defensa de la planta
- 10:30-11:00 Coffee Break
- 11:30-12:00 **Pablo Vera** (IBMCP). Control de la respuesta inmune a través de la edición de RNAs cloroplásticos
- 12:00-12:30 **Blanca San Segundo** (CRAG). Función de microRNAs en la resistencia a infección por patógenos en plantas
- 12:30-13:00 **Francisco Tenllado** (CIB). Reguladores positivos del huésped implicados en procesos de muerte celular durante infecciones virales compatibles
- 13:00-13:30 **Nuria Coll** (CRAG). New players in the regulation of the hypersensitive response in plants

Patrocinadores:



Palencia, 20 de Septiembre de 2016

Acceso libre. No es necesaria inscripción
XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología

Coordinadores:

César Llave (CIB, CSIC)

Emilia López Solanilla (CBGP, INIA-UPM)



*Grupo Especializado en Detección, Diagnóstico e Identificación de
la Sociedad Española de Fitopatología (GEDDI-SEF)*

Simposio: “*Xylella fastidiosa*: una especie compleja causante de enfermedades emergentes en Europa”

*XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología.
Palencia, 20 de septiembre de 2016*

Acceso libre



Organiza: **GEDDI-SEF**

Patrocina: **Sociedad Española de Fitopatología (SEF), DICSA S.L.**

Coordina: **María Milagros López**

9:00-9:10. Bienvenida e Introducción.

José Luis Palomo. Presidente del GEDDI-SEF.

9:10-9:35. *Xylella fastidiosa*, un problema global: enfermedades que causa.

María Milagros López. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) Moncada, Valencia

9:35-10:00. *Xylella fastidiosa*, características bacterianas, biología y ecología de la bacteria.

Blanca Landa, Instituto de Agricultura Sostenible (IAS- CSIC), Córdoba.

10:00-10:20. Coffee Break

10:20-10:45. Vectores de *Xylella fastidiosa* y mecanismos de transmisión. Estrategias de control.

Aranzazu Moreno, Instituto de Ciencias Agrarias (ICA- CSIC), Madrid.

10:45-11:10. Evaluación del riesgo de *Xylella fastidiosa* en la Unión Europea.

Juan A. Navas, Instituto de Agricultura Sostenible (IAS- CSIC), Córdoba.

11:10-12:00. Situación de *Xylella fastidiosa* en Francia: intercepciones, prospecciones, metodología de análisis y diversidad de cepas.

Françoise Poliakoff, Agence Nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES), Angers, Francia.

12:00-13:00. Mesa redonda con participación de los ponentes: Optimización de la prevención de *Xylella fastidiosa* en España: bases científicas para los planes de contingencia, prospecciones y análisis.

Moderadora: María Milagros López

A las 13,00h se celebrará la Asamblea del GEDDI-SEF (solo para socios).

RESÚMENES DE PONENCIAS **INVITADAS**

INV - 1
MICHAEL J. WINGFIELD
-UNIVERSIDAD DE PRETORIA-

FUNGAL TREE DISEASES: CAN WE RISE ABOVE THE GATHERING STORM?

MICHAEL J. WINGFIELD

Forestry and Agricultural Biotechnology Institute (FABI), University of Pretoria, Pretoria 0001 South Africa.

Native woody ecosystems and planted forests have been increasingly devastated by invasive alien fungal pathogens for more than 100 years. The trend continues at an alarming pace. Increasing numbers of invasions by fungi have clearly been driven by globalization, but also by the increasing pool of invasive pathogens linked to global tree-planting projects. It is evident that these accidental introductions are not only caused by lapses in quarantine, but that quarantine systems are inadequate to deal with the magnitude of the threat. In this regard, plant pathologists have an important part to play in reducing the occurrence and impact of tree diseases. For example, relatively little attention has been paid to the identification of tree pathogens; ironically this is true even for very commonly planted trees. The recognition of cryptic species including those related to very well known and damaging tree pathogens is a cause for concern. Likewise, the biology and thus pathways of spread is understood only for a very small number of well-known tree pathogens; mostly those occurring in Northern Hemisphere developed countries. Regarding tree pathogen spread, the relatively recent recognition that latent tree pathogens are moving globally in asymptomatic plant tissue adds a new level of complication to quarantine efforts. Technologies to identify tree pathogens accurately and to understand their biology and pathways of movement are available; these at a level that we could only have dreamed of even a few decades ago. What is lacking is an appreciation of the importance of tree diseases and an investment in research that will empower tree disease diagnosis, quarantine and tree health management systems. We have the tools to change the tide and to rise above the gathering storm. Our challenge as plant pathologists must now lie in raising the social

INV - 2
THOMAS GORDON
-UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA, DAVIS-
PHYSIOLOGICAL PLASTICITY IN PLANT-FUNGAL INTERACTIONS

T.R. GORDON

U.C. Davis

Plant associated fungi are commonly classified as pathogenic or nonpathogenic but such categorizations are always contingent on the circumstances under which relationships are evaluated. *Fusarium circinatum* was long regarded solely as a pathogen of coniferous trees but is now known to colonize grasses without causing symptoms. Even pine species that are susceptible to pitch canker can be colonized without developing symptoms under some circumstances. Such infections may lead to disease and consequently the fungus would be regarded as a latent pathogen, but the host may actually benefit from the infection during the latent phase. Recent studies have shown pine seedlings with cryptic root infections to grow faster than non-infected seedlings, to support more extensive colonization by mycorrhizae and to be more resistant to shoot infections. These and other examples illustrate the diversity of interactions that may occur between a fungus and a plant host with which it interacts.

-INSTITUTO VALENCIANO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS-
**INTENSIDAD VECTORIAL Y SU REDUCCIÓN. EL NÚMERO DE
PULGONES PPV O CTV VIRULÍFEROS QUE ATERRIZAN EN UN ÁRBOL SI
CUENTA PARA SU INFECCIÓN.**

MARIANO CAMBRA.

Verdaderas oleadas de pulgones (hembras partenogénicas) aterrizan en árboles desde el comienzo de primavera. Se ha cuantificado el porcentaje de pulgones virulíferos (portadores de virus transmisibles) visitantes que dependerá fundamentalmente de la densidad de inóculo en la zona, de la superficie foliar del árbol y de la latitud, altitud y condiciones climáticas del año y de la parcela de la plantación. La transmisión de Plum pox virus es un sofisticado y complejo mecanismo natural en el que colaboran coadjuvantes de la transmisión codificados por el virus y receptores específicos en el estilete del pulgón (transmisión no persistente) mediante un mecanismo de egestión-ingestión en breves segundos el virus es eficazmente inoculado. Citrus tristeza virus es transmitido de forma semipersistente mediante un mecanismo menos sofisticado. Las estrategias basadas en la reducción del número de pulgones que aterrizan o visitan árboles son eficaces para reducir la infección natural, pero no los tratamientos químicos. El uso de barreras físicas (mallas y aceites minerales de uso hortícola), así como el de plantas pantalla resistentes es discutido para reducir la infección natural.

INV - 4
TOLGA OSMAN BOZKURT
-IMPERIAL COLLEGE LONDON-

EFFECTORS AS MOLECULAR PROBES TO UNCOVER THE MECHANISM OF MICROBIAL ACCOMMODATION

TOLGA BOZKURT

Most pathogens are eliminated by the plant innate immune system, which involves cell polarization toward pathogen contact sites. This includes significant cellular reorganization, cell-wall reinforcements around pathogen entry sites and targeted secretion of antimicrobial molecules. To subvert these host responses and enable parasitic infection, adapted pathogens secrete a multitude of proteins inside the host tissue called effectors. Some pathogens including fungi and oomycetes are accommodated within the host cells through specialized cellular structures enveloped by host-derived membranes. However, the mechanisms underlying the biogenesis and functions of this intimate host-microbe interface are poorly understood. Specifically, our knowledge about the reprogramming of cellular and biochemical events that occur inside the infected plant cells is limited. These processes have been difficult to dissect with standard genetic approaches due to overlap between immunity and development. Pathogen-secreted effectors offer inroads into this problem. Here I will present how effectors are used to probe plant vesicle transport pathways targeted by pathogens and to reveal dynamic processes at the host-pathogen interface.

INV - 5
ANTONIO DE VICENTE MORENO
-UNIVERSIDAD DE MÁLAGA-

**LA NECROSIS APICAL DEL MANGO, UN RECORRIDO DESDE LA
PATOLOGÍA VEGETAL A LA GENÓMICA**

ANTONIO DE VICENTE.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea " La Mayora " (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, España. E-mail: adevicente@uma.es.

A principios de los 90, se describió por primera vez la necrosis apical del mango (NAM), en plantaciones comerciales de la provincia de Málaga. La sintomatología de esta enfermedad se caracteriza por la necrosis de yemas tanto florales como vegetativas y su etiología se asoció a cepas de la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss). El desarrollo de la NAM está fuertemente condicionado por las condiciones ambientales, elevada humedad y baja temperatura, lo que explica por qué no se ha descrito en áreas tropicales tradicionales del cultivo y, sin embargo, sí en las zonas de clima subtropical templado donde se ha introducido el mango, como la costa mediterránea, Canarias, Florida o el noroeste de Australia. Las cepas de Pss asociadas a mango constituyen un filotipo diferenciado dentro del pv. *syringae*, y presentan un amplio abanico de factores de virulencia: sideróforos, actividad INA y producción de fitotoxinas, como siringomicinas y siringotoxinas. Una característica específica de las cepas de Pss aisladas de mango es la producción de mangotoxina, una toxina antimetabolito, que inhibe a ornitina acetil-transferasa (OAT), y muestra un claro papel como factor de virulencia. Pss también presenta otra serie de factores que contribuyen a *fitness* epifítico, como la resistencia frente a cobre o la tolerancia a la radiación ultravioleta y solar, que se localizan frecuentemente en plásmidos. Otro factor de interés, que incrementa el *fitness* de la bacteria es la producción de celulosa. La secuenciación de la cepa Pss UMAF0158 aislada de mango, y su análisis comparado con otras secuencias disponibles, ha permitido confirmar la presencia en PssUMAF0158 de los operones relacionados con virulencia y *fitness* epifítico mencionados; así como de otras características adicionales de interés, como la presencia de un segundo sistema T3SS o de un repertorio particular de efectores en relación a la cepa B728a modelo del patovar *syringae*.

*Este trabajo está siendo financiado por el Programa de Incentivos a Proyectos de Excelencia de la CICE (Junta de Andalucía) (P12-AGR1473) y cofinanciado por los fondos FEDER (EU) .

INV - 6
MARÍA SAPONARI
- INSTITUTE FOR SUSTAINABLE CROP PROTECTION, NATIONAL
RESEARCH COUNCIL OF ITALY

RECENT ADVANCES ON THE *Xylella fastidiosa* EPIDEMIC IN OLIVES IN SOUTHERN ITALY

MARIA SAPONARI

- Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Sede di Bari, CNR

Olives turned to be the predominant affected host for the Salentinian strain of *Xylella fastidiosa* currently spreading in the southern part of the Apulia region (Italy). Bacterial infections have been associated to an emerging severe olive disease, olive quick decline syndrome (OQDS), and nearly 25 different host species have been found naturally infected in the Apulian contaminated area. Following the discovery of the first outbreak in 2013, the infections began spreading fast and many infection foci are now reported in the entire territory of the province of Lecce, with new infection sites recently emerged in the two neighbor provinces. Molecular investigations and comparative sequence analysis on the bacterial isolates recovered from different hosts and foci showed they belong to *X. fastidiosa* subspecies *pauca*, harboring a common sequence type (ST), identified as ST53, which suggests that the epidemic emerged from a single introduction most likely originating in Central America. Upon mechanical inoculations performed with pure culture of the CoDiRO strain, bacterial colonization was recovered in olive plantlets which after more than 1 year of incubation displayed wilting and shoot dieback, providing evidence on the role of the bacterium as causal agent of the OQDS. Similarly, mechanical inoculations on oleander and *Polygala myrtifolia* plants resulted in systemic infections and specific symptoms were reproduced under experimental conditions. Interestingly, field observations and artificial inoculations provide evidences of different olive cultivar response to the infections, and transcriptomic studies confirmed that an intrinsic tolerance may be present in the olive germplasm, opening the possibility for the implementation of sustainable disease containment strategies in the epidemic areas. To this end, to generate disease management strategies, data on the ecology and biology of the meadow spittlebug *Philaenus spumarius*, identified as a vector of *X. fastidiosa* in the infected area have been developed. The work so far carried out demonstrates that *P. spumarius* collected from olive orchards in Apulia have high rates of *X. fastidiosa* infection, and that at the adult stage these individuals can transmit the bacterium to host plants for most part of their life. The data show also that field-collected *P. spumarius* have high rates of *X. fastidiosa* infection suggesting that an integrated approach should be implemented to control pathogen spread in the landscape, which includes suppression of vector populations and removal of *X. fastidiosa* inoculum from the environment. Given the importance and the threat posed by this harmful plant pathogenic bacteria for the EU territory, the European Commission has recently launched important initiatives to support research actions aiming at implementing early detection tools for limiting the bacterial spread into new territories and to develop sustainable pest management strategies to reduce the disease impact in the epidemic area.

XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, 20-23 Septiembre 2016, Palencia

VIROIDS: A TRAVEL FROM PLANT PATHOLOGY TO THE ORIGIN OF LIFE**FLORES, R.¹**

Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad Politécnica de Valencia, España.
rflores@ibmcp.upv.es

Discovery of potato spindle tuber viroid (PSTVd) around 1970 unveiled the existence of a subviral world. Soon afterwards, other viroids were identified, amounting to approximately 30 to date. Despite being just composed by a small (~250-400 nt) circular and highly-structured RNA without protein-coding ability (all viruses code for one or more proteins), viroids infect plants and frequently induce disease. Viroids are classified into the family *Pospiviroidae* (type member PSTVd), adopting a rod-like secondary structure with a central conserved region (CCR) and replicating in the nuclei, and family *Avsunviroidae* (type member avocado sunblotch viroid) with a branched secondary structure, hammerhead ribozymes, and replication in chloroplasts. Viroids replicate through a rolling-circle mechanism with only RNA intermediates, in which the CCR and the ribozymes play a critical role.

Viroids, like viruses, are targeted by the RNA silencing machinery of their hosts, as revealed by: i) the presence in infected plants of viroid-derived small RNAs (vd-sRNAs) characteristic of RNA silencing, ii) the loading of the vd-sRNAs into the Argonaute core of the RNA-induced silencing complex, and iii) the restricted access of PSTVd to meristems through a process mediated by a host RNA-directed RNA polymerase involved in RNA silencing. Moreover, complementing early proposals considering the genomic viroid RNA as the initial pathogenic trigger, recent views have brought the vd-sRNAs onto the stage. Specifically, vd-sRNAs containing the albinism determinant of a chloroplast-replicating viroid target for cleavage (as predicted by RNA silencing) the host mRNA coding for a protein mediating chloroplast biogenesis.

Viroids are regarded “molecular fossils” of an RNA world that presumably preceded our present world based on DNA and proteins. The circular structure of viroids, their lack of protein-coding ability, and the presence of ribozymes in the family *Avsunviroidae*, support this view. Therefore, viroids are structurally, functionally and evolutionarily independent of viruses.

RESÚMENES DE **COMUNICACIONES ORALES**

SESIONES PLENARIAS

SESIONES PLENARIAS I

DESARROLLO DE UN MODELO ESPACIALMENTE EXPLÍCITO PARA PREDECIR LA EVOLUCIÓN DE LA INFECTIVIDAD EN UNA POBLACIÓN HETEROGÉNEA DE VIRUS

Cuevas-Zuñiga, B., Fraile, A. y García-Arenal, F.

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA), y E.T.S.I. Agrónomos, Campus de Montegancedo, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón (Madrid).

Los modelos son útiles para evaluar los factores que determinan la epidemiología y la evolución de las poblaciones de patógenos, y pueden facilitar decisiones sobre las estrategias para prevenir y controlar los procesos de emergencia. Muchos modelos utilizados en Patología Vegetal ignoran un factor esencial, la distribución espacial de las plantas infectadas o de los genotipos de huéspedes y patógenos. Hemos desarrollado un modelo centrado en el huésped individual, en el que la expansión de los focos de infección de distintos genotipos de un patógeno se describe de forma determinista, y la aparición de nuevos focos de forma estocástica. El modelo se aplica a la superación de la resistencia del huésped, por lo que tiene en cuenta además la genética de la interacción genotipo de huésped x genotipo del patógeno según el modelo gen a gen.

El modelo se aplica a predecir la evolución de la infectividad en una población de virus del género *Tobamovirus* en respuesta al uso de genes de resistencia en una población de pimiento. Para el análisis de distintos factores mediante simulaciones se han usado valores realistas de los parámetros, derivados de estimas experimentales o observacionales. El modelo permite analizar la evolución de la incidencia de virus según la composición genética del huésped, demostrando que una mayor diversidad genética supone menor incidencia. También permite analizar la evolución del virus considerando la selección impuesta por el huésped y la deriva debida a que los genotipos susceptibles se encuentren aislados y en baja densidad. En tercer lugar permite optimizar estrategias de control basadas en la disposición espacial de genotipos del huésped. Por último, el modelo es extrapolable a otros sistemas, no necesariamente epidemiológicos, en los que interactúen un actor móvil (en este caso el patógeno) y un actor estático con una localización determinada.

PHENOTYPIC AND GENOMIC ANALYSIS OF *Xanthomonas arboricola* STRAINS ALLOWED TO IDENTIFY FEATURES ASSOCIATED TO PATHOGENESIS IN *X. arboricola* pv. *pruni*

Garita-Cambronero, J.¹, Ferragud, E.¹, Palacio-Bielsa, A.², López, M.M.³, Cubero, J.¹

¹ Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Departamento de Protección Vegetal, Laboratorio de Bacteriología. Ctra. de la Coruña km 7,5, 28040, Madrid, España. cubero@inia.es

² Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España.

³ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Ctra. de Moncada a Náquera Km 4,5, 46113, Moncada (Valencia), España.

Xanthomonas arboricola is a bacterial species that includes nine pathovars classified according to their phytopathogenic specialization and molecular characteristics. One of these pathovars is *X. arboricola* pv. *pruni*, a quarantine organism in the EU, which is the causal agent of bacterial spot disease on *Prunus* spp. After an initial molecular and phenotypic characterization of pathogenic and non-pathogenic strains of *X. arboricola* isolated from *Prunus* in Spain, seven strains were selected for complete genome sequencing. Comparisons of general characteristics of the genomes, and particularly, the presence of 408 orthologs associated with initial stages of pathogenesis (sensing, adhesion, chemotaxis and motility) and of those involved in mechanisms of interaction after bacterial penetration into the host tissue (xanthan biosynthesis, type II secretion system, secretion of degradative enzymes, type II secretion system, type III effectors and type IV secretion system) were carried out. The analyses included the *Prunus*-isolated strains and other *X. arboricola* of pathovars *corylina*, *juglandis* and *celebensis* isolated from hazelnut, walnut and banana, respectively. The comparative analysis allowed to identify genomic variants among pathogenic and non-pathogenic *Prunus* strains as well as among the three pathovars analysed, which reveals insights associated with pathogenicity features and host specificity in *X. arboricola* pv. *pruni*.

This Project was funded by RTA2014-00018-C02-01 project from INIA

MONITORIZACIÓN DE LA INCIDENCIA, DISPERSIÓN E IMPACTO DE LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO EN PLANTACIONES DE PINO RADIATA.

Raposo R.^{1,6}, Elvira-Recuenco M.¹, Aragonés A.², Manzanos T.², Hernandez L.¹ Cantero A.⁴, Saenz D.⁴, Tazo I.⁴, Mesanza N.², Patten C.L.³, Brenning A.⁵, Ritter R.², Iturritxa E.²

eiturritxa@neiker.eus

¹INIA-CIFOR, Ctra. La Coruña Km 7.5, 28040 Madrid Spain

²Plant Protection, Neiker Tecnalia, Apartado 46, Vitoria Gasteiz, Álava, 01080, Spain.

³Department of Biology, University of New Brunswick, PO Box 4400, Fredericton, NB, E3B 5A3, Canada.

⁴HAZI Granja Modelo, s/n, 01192 Arkaute, Araba Spain

⁵Department of Geography, Friedrich Schiller University, Loebdergraben 32, 07743 Jena, Germany

⁶Instituto Universitario para la Gestión Forestal Sostenible, INIA- Universidad de Valladolid, Avda. Madrid s/n, 34004 Palencia

Durante más de 10 años se han llevado a cabo diversos estudios sobre la incidencia, dispersión e impacto de la enfermedad del chancro causada por la especie *Fusarium circinatum* en el País Vasco, especie responsable de producir severas pérdidas económicas.

Un compendio de estudios afrontados desde diferentes áreas de conocimiento y con un objetivo común, ha aportado un mejor entendimiento de la complejidad de esta enfermedad.

Se lleva a cabo una monitorización intensiva sobre una selección de parcelas piloto en las que se realiza un seguimiento sistemático, se estudia su distribución espacial, las posibilidades de dispersión además de una estimación del impacto económico y ambiental al extrapolar estos resultados al ámbito geográfico global.

La monitorización de estas parcelas se realiza en conjunción con una monitorización por teledetección de alta resolución que contribuye en la detección temprana de zonas afectadas.

El estudio de la epidemiología de la enfermedad, el intensivo muestreo y la recopilación de datos a través de diversas fuentes en parcelas de monitorización, proporciona una información altamente valiosa sobre el impacto actual y potencial de estas especies nativas y exóticas.

CHARACTERIZATION OF RESISTANCE TO ALL CHEMICAL CLASSES OF SITE-SPECIFIC FUNGICIDES REGISTERED FOR GRAY MOLD CONTROL ON STRAWBERRIES IN SPAIN

Fernández-Ortuño, D.¹, Torés, J.A.¹, Chamorro, M.², Pérez-García, A.³, de Vicente, A.³

¹Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora"-Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Estación Experimental "La Mayora", 29750 Algarrobo-Costa (Málaga), Spain.

²Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Junta de Andalucía, 41012 Sevilla, Spain.

³IHSM-UMA-CSIC, Dept. de Microbiología, Facultad de Ciencias, Bulevar Louis Pasteur s/n, Campus de Teatinos, 29071 Málaga, Spain.

Botrytis cinerea Pers., causal agent of the gray mold disease, is one of the most economically important fungal pathogens of strawberries worldwide. In Spain, as in other parts of the world, the main strategy for gray mold control involves the application of different classes of fungicides. To determine the fungicide resistance of the Spanish strawberry field population, 367 *B. cinerea* isolates were examined from 13 conventional and one organic strawberry field in Huelva (Spain) in 2014 and 2015. The sensitivities of these isolates to the six chemical classes of fungicides used for gray mold control in our country were examined using a spore germination assay with previously published discriminatory doses. The overall resistance frequencies were: for pyraclostrobin 74.6 %, boscalid 64.8 %, cyprodinil 37.0 %, fenhexamid 23.7 %, iprodione 14.7 %, and fludioxonil 0.8 %. Most strains (35.1%) were resistant to three different classes of fungicides. Between these isolates, the most prevalent resistance profile (55.8%) was resistance to pyraclostrobin, boscalid, and cyprodinil, followed by the resistance profile (30.2%) of pyraclostrobin, boscalid, and fenhexamid. One isolate was resistant to all six fungicides in 2015. Resistance to boscalid, fenhexamid, iprodione, and pyraclostrobin was caused by amino acid substitutions on target proteins, including H272R/Y in SdhB, F412I/S/V in Erg27, I365N/S in Bos1, and G143A in Cytb, respectively. Fludioxonil-resistant isolates were categorized as MDR1 or MDR1h dependent on sensitivity to cycloheximide, cyprodinil, fludioxonil, and tolnaftate. Our results justify the implementation of a resistance-monitoring program to help Spanish strawberry growers determine location-specific resistance profiles, identify weaknesses in their spray programs and to tailor spray sequences to farm-specific needs.

This work has been supported by the Marie Curie COFUND programme U-Mobility, co-financed by the University of Malaga, the European Commission FP7 under GA No. 246550, and Ministerio de Economía y Competitividad (COFUND2013-40259) and by Fundación General CSIC (Programa ComFuturo).

SESIONES PLENARIAS II

IDENTIFICACIÓN DE UNA FAMILIA DE QUITINASAS DE *Podosphaera xanthii* IMPLICADAS EN LA MANIPULACIÓN DE LA INMUNIDAD DISPARADA POR QUITINA

Martínez-Cruz, J., Romero, D., de Vicente, A., Pérez-García, A.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”-Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga. E-mail: jesusmcruz@uma.es

Los oídios son patógenos biotrofos obligados que requieren células vivas para completar su ciclo de vida, por lo que deben eludir o inhibir las respuestas de defensa de la planta mediante la secreción de efectores. El haustorio, estructura del hongo especializada en la toma de nutrientes, es también la vía de intercambio de factores con las células huésped. Hasta la fecha, son muy numerosos los efectores identificados en diversos hongos fitopatógenos, sin embargo, es poco lo conocido acerca de los efectores de oídios.

En este trabajo hemos desarrollado un método para el análisis de efectores candidatos de *Podosphaera xanthii* (ECP), agente causal del oídio de las cucurbitáceas, mediante el silenciamiento génico inducido por el hospedador (HIGS) en cotiledones de melón, utilizando para ello *Agrobacterium tumefaciens*. El silenciamiento de efectores candidatos provocó diferente respuesta de defensa en planta, observándose diferencias en la acumulación de H₂O₂, lo que sugiere la diferente implicación de estos efectores en la infección. Además, la activación de la respuesta en planta se tradujo en un efecto negativo sobre el desarrollo del hongo. En paralelo, se realizó el modelado y el análisis informático de los efectores. En especial destacan los efectores ECHA, cuyo modelo muestra homología con quitinasas. Los análisis *in vitro* validaron la actividad predicha de estos efectores. Además, el doble silenciamiento de efectores ECHA y el receptor de quitina de melón *CERK1*, muestra que estos efectores modulan la inmunidad disparada por el reconocimiento de quitina. Mediante la fusión traduccional ECP5191-GFP (efector ECHA), se han localizado estos efectores en los puntos de penetración, lugar donde se acumula gran cantidad de quitina. Tras los resultados obtenidos, podemos concluir los efectores ECHA constituyen una familia de quitinasas con papel en la patogénesis. Además, los resultados confirman que esta metodología es útil para la identificación de efectores de *P. xanthii*.

Este trabajo ha sido financiado por ayudas del Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2013-41939-R), cofinanciado con fondos FEDER (UE).

VARIACIÓN DE LOS PATOTIPOS Y RAZAS Y SU CORRELACIÓN CON LINAJES CLONALES EN *Verticillium dahliae*

Jiménez-Díaz, R.M. ^{1,2}, Olivares-García, C. ¹, Trapero-Casas, J.L. ², Jiménez-Gasco, M.M. ³, Navas-Cortés, J.A. ², Landa, B.B. ², Milgroom, M.G. ⁴

¹ ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus Rabanales; Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3. agljidir@uco.es.

² Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC, Alameda del Obispo s/n, 14004 Córdoba, España.

³ Department of Plant Pathology and Environmental Microbiology, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA.

⁴ Plant Pathology and Plant-Microbe Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.

Las poblaciones de *Verticillium dahliae* tienen una estructura clonal que comprende los patotipos defoliante (D) y no defoliante (ND) y las razas 1 y 2. Investigaciones anteriores revelaron que el patotipo D está circunscrito en un solo linaje clonal (1A/D). Sin embargo, se desconoce si existe una relación clara entre razas y linajes clonales. La raza 1 contiene el gen efector *Ave1* (del que es deficiente la raza 2) y no es patogénica sobre plantas que contienen el gen de resistencia *Ve1* o sus homólogos. En este trabajo hemos contrastado si la raza 1 se originó una sola vez, en un solo linaje clonal, como podría esperarse si, como se ha especulado, *V. dahliae* adquirió el gen *Ave1* mediante transferencia horizontal de plantas. Análisis con marcadores moleculares de 195 aislados de *V. dahliae* en nueve linajes clonales indicaron que los aislados de la raza 1 están comprendidos solo en el linaje 2A/ND y que los aislados comprendidos en el linaje 2A/ND pertenecen solo a la raza 1, así como que la secuencia del gen *Ave1* en los aislados del linaje 2A/raza1 es idéntica a la de otros aislados de la raza 1 depositadas en GenBank. La pertenencia de la raza 1 a un solo linaje clonal con idéntica secuencia del *Ave1* es consistente con la hipótesis de monofilia. Ensayos *in planta* y análisis de marcadores moleculares confirmaron que el patotipo D está circunscrito en el linaje 1A e indicaron que pertenecen a la raza 2. Sin embargo, la relación entre linajes y raza 2 es compleja porque ésta también comprende al patotipo ND en otros seis linajes. Además, ensayos *in planta* indicaron que los aislados del linaje 1A/D y raza 2 son muy virulentos sobre algodón y olivo pero escasamente virulentos sobre tomate.

Financiado por los proyectos P10-AGR 6082 y P11-AGR 7992, CEICE, Junta de Andalucía, cofinanciados con fondos FEDER, UE.

DICER-LIKE 4 ESTÁ IMPLICADO EN LA RESTRICCIÓN DEL MOVIMIENTO SISTÉMICO DEL VIRUS DEL MOSAICO AMARILLO DEL CALABACÍN EN *Nicotiana benthamiana*

Cordero, M.T.¹, Cerdán, L.¹, Carbonell, A.¹, Katsarou, K.², Kalantidis, K.², Darós, J.A.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-Universidad Politécnica de Valencia), Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, España. jadaros@ibmcp.upv.es

² Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Foundation for Research and Technology; and Department of Biology, University of Crete, Heraklion, Crete, Greece.

Los productos de la expresión génica de los virus y de sus huéspedes establecen una compleja red de interacciones que muchas veces conduce al desarrollo de una infección, pero otras a la resistencia. El virus del mosaico amarillo del calabacín (ZYMV, género *Potyvirus*, familia *Potyviridae*) es uno de los patógenos virales más relevantes de las cucurbitáceas, familia de plantas que incluye cultivos tan importantes como melón, sandía, calabaza, calabacín o pepino. Se trata de un virus de RNA de cadena positiva de difícil control, debido a su eficiente transmisión por áfidos vectores. En nuestro trabajo reciente, hemos desarrollado un sistema que permite el seguimiento visual de las infecciones virales en plantas, basado en la expresión del factor de transcripción Rosea1 de *Antirrhinum majus*. Rosea1 induce la expresión de genes de la ruta biosintética de las antocianinas que culmina con la acumulación de este tipo de pigmentos en el tejido infectado. Para facilitar la búsqueda de genes de resistencia al ZYMV en bancos de germoplasma, construimos un clon infeccioso recombinante del ZYMV que expresaba Rosea1 (ZYMV-Ros1). Inesperadamente, cuando se inocularon distintas especies de cucurbitáceas con este clon viral, no se observó ninguna acumulación de antocianinas coloreadas en el tejido infectado. Probablemente, esto es debido a que las cucurbitáceas no tienen completa la ruta biosintética de antocianinas. Sin embargo, cuando se inocularon plantas de *Nicotiana benthamiana* con ZYMV-Ros1, sí que se observó la acumulación de pigmentos rojos en los tejidos infectados. Los resultados de estos experimentos mostraron que nuestro aislado del ZYMV se replica muy eficientemente en el tejido inoculado, pero sólo unas pocas partículas virales son capaces de moverse a larga distancia estableciendo focos de infección en tejido sistémico, observación que habría sido muy difícil sin el marcador visual Rosea1. Este comportamiento de ZYMV-Ros1 en *N. benthamiana* lo convierte en un sistema experimental idóneo para estudiar factores del huésped implicados en el movimiento sistémico del virus. Con esta herramienta hemos analizado la actividad de las cuatro endorribonucleasas DICER-LIKE (DCL), elementos clave en las rutas de defensa de silenciamiento por RNA de las plantas, en la replicación y el movimiento sistémico de ZYMV-Ros1 en *N. benthamiana*. La comparación entre la capacidad del virus de amplificarse en tejido inoculado y de moverse a larga distancia en líneas silenciadas en *DCL1*, *DCL2*, *DCL3*, *DCL4*, *DCL2/4* y *DCL2/3/4* mostró como *DCL4* está particularmente implicado en la restricción del movimiento sistémico de ZYMV-Ros1 en *N. benthamiana*.

EL RÉGIMEN DE LUZ REGULA LA PATOGÉNESIS EN *Pseudomonas syringae* PV. TOMATO DC3000

Santamaría-Hernando, S.^{1,2}, del Río Álvarez, I^{1,2}, Rodríguez-Hervá, J.J.^{1,2}, López-Solanilla, E.^{1,2}

¹Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid (UPM) - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) Campus Montegancedo UPM, 28223-Pozuelo de Alarcón (Madrid), Spain. saray.santamaria@upm.es

²Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM, 28040-Madrid, Spain.

Pseudomonas syringae pv. tomato DC3000 (PsPto) es el agente causal de la mancha bacteriana en tomate, una enfermedad que genera importantes pérdidas económicas a nivel mundial. Esta bacteria habita la filosfera de las plantas, donde está expuesta a altos niveles de radiación ultravioleta. La luz regula los mecanismos de defensa en plantas. Desde un contexto co-evolutivo las bacterias fitopatógenas serían capaces de percibir las diferentes condiciones de luz, lo que se correlacionaría con diferentes niveles de resistencia de la planta. PsPto presenta en su genoma un dominio receptor de luz azul de tipo LOV (“light-oxygen-voltage”) y dos bacteriofitocromos, receptores de luz roja, que le permiten percibir diferentes condiciones de luz. Previamente, hemos demostrado que la motilidad de tipo swarming y la adhesión a la superficie de las plantas en PsPto dependen de la intensidad de luz, y que el control de estas funciones a través de la luz, durante la fase epifítica, supone una reducción en el grado de virulencia. La intensidad y la calidad de la luz cambian a lo largo del día, siendo el crepúsculo el periodo de transición en el que la ocurrencia de luces monocromáticas es más prevalente. Hemos analizado a nivel transcripcional la respuesta de Pto a diferentes luces monocromáticas. El perfil de expresión génica revela el papel de la luz azul en el control de la expresión de genes relacionados con el T3SS y el papel de la luz roja en la regulación de la expresión de genes de biosíntesis de coronatina. Los ensayos de virulencia, en la cepa silvestre y en diferentes cepas mutantes afectadas en los fotorreceptores de luz azul y roja, muestran un importante efecto de las luces monocromáticas en los primeros estadios de la interacción con la planta, los cuales determinan el resultado final de la infección.

A GENOME-WIDE SURVEY OF MUTATIONS IN WILD ISOALTES OF THE MAIZE PATHOGEN *Colletotrichum graminicola*Rech, G.E., Sanz-Martín, J.M., Sukno, S.A., Thon, M.R.Instituto Hispanoluso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Department of Microbiology and Genetics, University of Salamanca, 37185 Villamayor, Spain. mthon@usal.es

Comparative genomic studies of filamentous fungi have revealed an association between repetitive sequences (RS) and genes involved in pathogenicity. *Colletotrichum graminicola* genome sequencing has revealed that RS are found throughout the genome and no correlation was found between TEs and candidate effectors or secondary metabolism genes. In this work we phenotypically characterized and performed whole-genome sequencing of seven field isolates of *C. graminicola* from different regions of the world. We analyzed patterns of large mutations (such as gene/exon loss), medium size mutations (deletions and translocations) and small mutations (small INDELS and SNPs) and determined those genes putatively affected by mutations in each isolate. We found that the amount of genomic variation in each chromosome is positively correlated with the amount of repetitive DNA, however we did not find evidence of a bipartite architecture ('two-speed' genome) in the genome. When considering the degree of virulence of the isolates we have found two different scenarios: phenotypically-similar isolates showing large genetic differences and phenotypically-different isolates showing few genetic differences. In the first case, this discordance may indicate that the *C. graminicola* genome has the capability to tolerate a large number of mutations without altering the phenotype (buffering). In the second case, the results may indicate that specific mutations at key genes involved in pathogenicity may result in drastic reductions of virulence. We found that the impact of mutations differs across different gene categories related with pathogenicity. Virulence factors, transporters and transcription factors are usually less affected by high impact mutations, while secondary metabolism and genes upregulated during the infection process are more affected by moderate impact mutations. Overall, this study helps to improve our understanding of *C. graminicola* genome dynamics and provides a valuable resource for selecting targets for further functional analyses aimed at identifying genes involved in the development of maize anthracnose.

RNAS DE PEQUEÑO TAMAÑO DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS EN AGALLAS DE ARABIDOPSIS FORMADAS POR *Meloidogyne javanica*

Cabrera, J.¹, Barcala, M.¹, Silva, A.C.¹, Fenoll, C.¹, Escobar, C.¹

¹ Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Universidad de Castilla La Mancha, Avenida Carlos III, s/n, 45071, Toledo, España. javier.cabrerachaves@uclm.es

Los nematodos fitoendoparásitos causan todos los años importantes pérdidas económicas en la agricultura. Entre éstos se encuentran los formadores de agallas pertenecientes al género *Meloidogyne* spp., los cuales originan la proliferación de células vasculares e hipertrofia de las células corticales en la raíz de la planta hospedadora, formando un pseudo-órgano llamado agalla, dentro del cual se inducen entre 5 y 8 células nutricias llamadas células gigantes. En anteriores trabajos, analizamos los transcriptomas de los sitios de alimentación del nematodo (células gigantes y agallas) inducidos en raíces de Arabidopsis y tomate a los 3 días post infección. Se observó una alta proporción de genes reprimidos en las células gigantes en ambas especies, lo cual no ocurría en los transcriptomas de las agallas que contenían dichas células gigantes. La participación de RNAs de pequeño tamaño (sRNA) en mecanismos de silenciamiento global de genes está siendo ampliamente descrita. Por ese motivo, decidimos analizar usando secuenciación masiva la población de sRNA presentes en agallas inducidas por *M. javanica* en Arabidopsis a tiempos tempranos de la infección en comparación con tejido no infectado control. La mayoría de los miRNAs diferencialmente expresados estaban reprimidos, mientras que solamente una baja proporción de ellos estaban inducidos en agallas en comparación con las raíces no infectadas usadas como control. Dentro de los miRNAs inducidos, describimos que el miR390a, podría estar mediando la represión de algunos *FACTORES de RESPUESTA a AUXINAS*, como *ARF3*, en agallas a través de la regulación de otro RNA de pequeño tamaño, tasiRNA3a (Cabrera et al., 2016). miR390a se encuentra también inducido en los sincitios formados por el nematodo *Heterodera schachtii* en Arabidopsis, observándose además una disminución de las infecciones en las líneas mutantes para miRNA390a y para tasiRNA3a. Al contrario de lo que ocurre con la población de miRNAs, la población de sRNA de 24 nucleótidos (normalmente correspondientes a sRNA asociados a regiones repetitivas del DNA) estaba altamente inducida en agallas. Estos resultados podrían explicar, al menos parcialmente, la represión masiva de genes observada en los transcriptomas de células gigantes citados anteriormente.

Referencias

Cabrera J, Barcala M, García A, Rio-Machín A, Medina C, Jaubert-Possamai S, Favery B, Maizel A, Ruiz-Ferrer V, Fenoll C, Escobar C. 2016. *New Phytologist*. 209(4):1625-40.

SESIONES PLENARIAS III

EFFECTO DE LAS INFECCIONES MIXTAS EN LA DINÁMICA EVOLUTIVA DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE (PepMV) EN TOMATE

Alcaide, C.¹, Gómez-Aix, C.¹, Juárez, M.², Sánchez-Pina, M.A.¹, Aranda, M.A.¹, y Gómez, P.^{1*}

¹ *Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)- CSIC, Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, PO Box 164, 30100 Espinardo, Murcia, España*

² *Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. de Beniel km 3.2, 03312 Orihuela, Alicante, España*

* *Correspondencia: pglopez@cebas.csic.es*

Las infecciones mixtas de virus en plantas son más comunes en la naturaleza de lo esperado. Sin embargo, el alcance que pueden tener estas infecciones mixtas en la epidemiología y dinámica evolutiva de una enfermedad viral es desconocido. El objetivo de este trabajo es conocer cómo las infecciones mixtas pueden afectar la dinámica de una población viral, estudiando el virus del mosaico del pepino dulce (PepMV); un virus emergente de ARN que está causando graves epidemias en cultivos de tomate en todo el mundo. Nuestros estudios epidemiológicos muestran que la población de PepMV en los cultivos de tomate de dos zonas productoras de la Región de Murcia está compuesta mayoritariamente por aislados de tipo CH2. Sin embargo, en una de las zonas productoras y después de 10 años, aún seguimos detectando aislados del tipo PepMV-EU co-circulando con los aislados de tipo CH2 en infecciones mixtas. Los análisis de diversidad nucleotídica revelan que hay una mayor variabilidad genética en las poblaciones tipo CH2 procedentes de los cultivos con infecciones mixtas. Además, hemos observado que, en condiciones experimentales, la interacción antagonista que hay entre ambos tipos de PepMV se mantiene tanto en presencia de otro virus de ARN, el virus del mosaico del pepino (CMV), como en otro huésped, *Nicotiana benthamiana*, lo cual sugiere una competición viral por recursos comunes muy específica. Asimismo, resultados preliminares de microscopía, basados en la localización de RNA viral mediante hibridación *in situ*, indican que ambos tipos de PepMV son capaces de co-infectar las mismas células. Nuestros resultados sugieren que la competición entre cepas de un virus dentro del mismo huésped puede contribuir a un incremento de la diversificación genética, alterando la estructura y dinámica poblacional del virus, y por lo tanto, tener consecuentes implicaciones epidemiológicas a tener en cuenta en el desarrollo de estrategias de control.

REGULATION OF THE IMMUNITY REPRESSOR *BIR1* BY THE RNA-DIRECTED DNA METHYLATION PATHWAY DURING VIRAL INFECTIONS

Guzmán-Benito, I.¹, Diezma, L.¹, Donaire, L.¹, Wierzbicki, A.T.², Ruiz-Ferrer, V.¹, Llave, C.¹

¹ Department of Environmental Biology, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, Spain. ireneguzman@cib.csic.es

² University of Michigan, Department of Molecular, Cellular and Developmental Biology, Ann Arbor, MI 48109, USA.

BAKI-INTERACTING RECEPTOR-LIKE KINASE (BIR1) is a negative regulator of the basal innate immunity in plants that interacts with *BAKI*, a general positive regulator of several signaling pathways. Under normal developmental conditions, *BIR1* is constitutively expressed in all plant tissues to impair undesired activation of plant defense. In the *Arabidopsis bir1-1* mutant plants exhibit constitutive expression of defense-related genes, strong dwarfism and developmental abnormalities. Due to its role as repressor of basal immune response, its expression has to be tightly regulated during development and in response to pathogen challenge. Inspection of the MPSS database reveals that the promoter region of the *BIR1* gene in *Arabidopsis* produces large amounts of small interfering RNAs (siRNA) of 24 nts in a region strongly methylated. This prompted us to hypothesize that *BIR1* is transcriptionally regulated under normal growing conditions by a mechanism that involves RNA-directed DNA methylation (RdDM). Then we speculate if viral infection contributes to relieve the methylation status of *BIR1* to promote transcription.

Whole genome bisulfite sequencing (WGBS) of *Arabidopsis* confirms that cytosines at the *BIR1* promoter are methylated in the CG, CHG and CHH contexts. The asymmetrical cytosine methylation is substantially alleviated in *nrpe1* and *ago4* mutants. Furthermore, *PolV* transcripts corresponding to the *BIR1* promoter were identified by RNA immunoprecipitation (RIP-seq). These results suggest that the predicted *BIR1* promoter is methylated by RdDM mediated by *PolV*. Next, we use a series of experimental approaches to compare *BIR1* and *PolV* expression between wild-type *Arabidopsis* and several RdDM-defective genetic backgrounds using mock-inoculated and virus-infected plants. Bisulfite sequencing of the *BIR1* promoter is used to assess cytosine methylation in virus-infected plants. To understand the effect of salicylic acid (SA), a major player of plant immunity, on *BIR1* activation, we also analyze the methylation of the *BIR1* promoter after SA treatment in a time-course assay. Our results contribute to understanding the underlying mechanism of *BIR1* regulation under normal developing conditions and during viral attacks.

NEW INSIGHTS INTO THE MOLECULAR BIOLOGY, TRANSMISSION AND CONTROL OF TOMATO-INFECTING TORRADOVIRUSES

Ferriol I.¹, Zamora-Macorra E. J.², Turina M.³, Falk B. W.¹

¹ University of California Davis, Department of Plant Pathology, 95616, Davis, CA, USA

² Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, Texcoco, Mexico

³ Institute for Sustainable Plant Protection, CNR, Strada delle Cacce 73, 10135 Turin, Italy

Torradoviruses are emergent whitefly-transmitted RNA plant viruses with bipartite genomes consisting of two single-stranded plus-sense RNAs (7 and 5 kb). However, unlike other whitefly-transmitted viruses, vector specificity appears to be low, and torradoviruses tested so far are transmitted by whiteflies of the genera *Bemisia* and *Trialeurodes*. *Tomato marchitez virus* (synonymous with Tomato apex necrosis virus) causes important economic losses in tomato in Mexico. The control of ToMarV relies on using tomato resistant cultivars and the control of its whitefly vector. However, screening of tomato cultivars resistant to ToMarV is hampered by the difficulty to inoculate ToMarV mechanically in tomato, and the specific mode of transmission of ToMarV has been poorly studied. In this work, we constructed infectious cDNA clones of ToMarV isolate M (ToMarV-M) that mimicked the biological activity of the wild-type virus. The viral progeny generated from tomato and tomatillo plants were transmissible by the whitefly *B. tabaci* biotype B. We next assessed whether these infectious clones could be used for screening tomato cultivars for resistance to ToMarV-M and our results allowed us to differentiate resistant and susceptible tomato lines. We used these infectious cDNA clones to localize the retention site of ToMarV-M in its whitefly vector by immunofluorescent localization. Our results showed that the retention site of ToMarV-M is located in the distal part of the maxillary stylets of *B. tabaci* biotype B whiteflies. Transmission and retention of ToMarV-M by *B. tabaci* biotype B were only observed when whiteflies had been fed on ToMarV-infected plants, but not using purified virions. Lack of immunofluorescent signals was observed in the stylet of *B. tabaci* whiteflies fed with ToMarV-M-virions and in non-viruliferous whiteflies. Our results open a research avenue to investigate torradovirus mode of transmission and the interactions with its whitefly vector to develop better integrated strategies for torradovirus control.

PAPEL DEL SILENCIAMIENTO GÉNICO EN LA REGULACIÓN DE GENES R DURANTE LA INTERACCIÓN CON *Pseudomonas Syringae*.

Diego López-Márquez¹, Edgar A. Rodríguez-Negrete¹, Nieves López-Pagan¹, Adela Zumaquero¹, Eduardo R. Bejarano¹ and Carmen R. Beuzon¹.

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Málaga, 29071. dlm@uma.es

El silenciamiento génico es un mecanismo de regulación de la expresión génica mediado por pequeños RNAs. En plantas, los precursores de estos pequeños RNAs, son procesados por proteínas Dicer-Like (RNase III). Existen dos tipos principales de pequeños RNAs involucrados en silenciamiento génico: Los pequeños RNAs interferentes (siRNAs) y los microRNAs (miRNAs), difiriendo estos en su biogénesis y modo de acción pero compartiendo tamaños similares (20-24 nt). Esta regulación mediada por pequeños RNAs puede ocurrir tanto a nivel transcripcional (TGS) como post-transcripcional (PTGS).

Durante el proceso de infección, las plantas modulan la expresión de una variedad de genes implicados en la respuesta de defensa, donde recientemente se ha demostrado que los pequeños RNAs desempeñan un papel fundamental. El análisis de los perfiles de expresión de diferentes mutantes afectados en la biogénesis de pequeños RNAs y plantas infectadas con *Pseudomonas syringae* pathovar tomato DC3000, nos ha permitido identificar una serie de genes “R” no caracterizados (TIR-NBS-LRR) expresados diferencialmente en ambas condiciones. Con el uso de diferentes herramientas bioinformáticas, identificamos un miRNA* de 22 nt como potencial regulador de la expresión de dichos genes “R” a través de la generación de siRNAs. Hemos demostrado que la expresión del precursor de dicho miRNA* (pri-miRNA) es reprimida durante la infección tras la detección de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMPs) y de una forma dependiente del Ácido Salicílico (SA). Además hemos observado que plantas con niveles alterados de dicho miRNA* muestran fenotipos alterados de PTI, lo cual sugiere un papel del miRNA* en este mecanismo de defensa frente a la bacteria. Finalmente hemos identificado uno de los genes diana de este miRNA como un regulador negativo de la respuesta de defensa frente a *Pseudomonas syringae*.

SESIONES PLENARIAS V

NUEVA METODOLOGÍA BASADA EN MINISECUENCIACIÓN O SNaPshot MÚLTIPLE PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TODAS LAS SUBESPECIES DE *Xylella fastidiosa* Y GENOTIPOS DE *Xylella fastidiosa* subsp. *pauca*

MONTES-BORREGO, M.¹, SAPONARI², M., DE LA FUENTE, L.³, LANDA, B.B.^{1*}

¹ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Apdo. 4084, 14080-Córdoba. blanca.landa@ias.csic.es

² Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante UOS Bari (CNR-IPSP), Italy

³Department of Entomology and Plant Pathology Auburn University, Alabama, USA

Xylella fastidiosa (*Xf*) es una bacteria Gram-negativa de cuarentena en la Unión Europea, que crece restringida en el xilema de las plantas y presenta a menudo variantes patogénicas específicas (subespecies) de ciertos huéspedes. *Xf* causa importantes enfermedades y pérdidas de rendimientos en diferentes cultivos y plantas forestales y ornamentales, llegando a infectar más de 340 especies vegetales. La asignación genotípica de *Xf* a nivel de subespecie es necesaria para permitir realizar inferencias acerca de la biología de los aislados y/o su procedencia en el momento que se realiza alguna interceptación de esta bacteria en un país donde no está presente. En este estudio se ha desarrollado un nuevo protocolo basado en la minisecuenciación, que consiste en una reacción de extensión de un cebador en un único nucleótido (SNUPE), utilizando cuatro cebadores simultáneamente, y que permite la identificación de todas las subespecies de *Xf* (subsp. *fastidiosa*, *multiplis*, *sandyi* y *pauca*) y de tres genotipos de *Xf* subsp. *pauca*, incluyendo la cepa CoDiRO causante de la enfermedad de decaimiento rápido del olivo en el sur de Italia. El protocolo resultó robusto para la predicción de todas las subespecies y genotipos de *Xf* en pruebas ciegas realizadas utilizando ADN extraído de: i) cultivos puros de *Xf*, ii) diferentes plantas infectadas por *Xf* de forma artificial o natural, y iii) insectos vectores portadores de *Xf*. Este protocolo SNUPE múltiple puede ser muy útil como una primera metodología de análisis rápida y robusta para la asignación taxonómica de cepas de *Xf* a nivel de subespecie o genotipo (*Xf* subsp. *pauca*), en estudios epidemiológicos de campo o para fines de cuarentena cuando se intercepte material infectado por la bacteria.

Investigación financiada por el Proyecto POnTE H2020-SFS-2014-2015 Sustainable Food Security call (Topic SFS-03a-2014: Native and alien pests in agriculture and forestry).

Palabras clave: bacterias, caracterización haplotipos, huésped, subespecie minisecuenciación

CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS CEPAS DE *Pseudomonas Syringae* AISLADAS DE KIWI Y CON BAJA VIRULENCIA.

Morán F.¹, Landeras E.², Peñalver J.¹, Monterde A.¹, Morente C.¹, Abelleira A.⁴
González A. J.³ y López, M.M.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). CV-315, Km 10.7. Moncada. 46113. Valencia (moran_fel@gva.es)

² Laboratorio de Sanidad Vegetal (LSV) de Asturias. C/ Lucas Rodríguez Pire, 4 - bajo Villaviciosa. 33011 Oviedo.

³ Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Apdo 13. 33300. Asturias.

⁴ Deputación Pontevedra, Estación Fitopatológica do Areeiro. Subida á Robleda, S-N 36153 Pontevedra.

El chancro bacteriano del kiwi está causado por *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), responsable de importantes pérdidas económicas a nivel internacional. Hasta 2014 se distinguían cuatro biovars de Psa, en pero luego las cepas del biovar 4 (de baja virulencia), fueron reclasificadas como *Pseudomonas syringae* pv. *actinidifoliorum* (Psaf). Entre los años 2011 y 2013, tanto Psa como Psaf fueron detectadas por primera vez en España (Galicia). Paralelamente, prospecciones en Asturias desvelaron la presencia de plantas de *Actinidia deliciosa* con síntomas similares a los de Psaf, de las cuales se aislaron cepas con un perfil diferente al de Psaf; por lo que se les ha denominado inicialmente “Psaf look-alike”. El objetivo de este estudio fue clasificar estos nuevos aislados mediante una aproximación polifásica con análisis comparativos basados en características fenotípicas y genéticas.

Dell resultado de estos análisis comparativos (test LOPAT, patogenicidad en limón, producción de proteínas con actividad INA, test GATTa, Tiras API 50CH, comparación de secuencias repetitivas del genoma(REP, ERIC y BOX PCR), secuenciación del gen rRNA16S, detección de genes efectores de sistemas de secreción de tipo III, , detección de los genes *syrB*, *syrD*, *argK* y *Cfl*, ensayo de virulencia y patogenicidad en *A. deliciosa* y análisis MLSA de los genes *gyrB*, *rpoD*, *gapA* y *gltA* se concluye que estas nuevas cepas (“Psaf look-alike”) mostraron diferencias significativas, tanto a nivel fenotípico como molecular con Psa y Psaf, clasificándose en un nuevo grupo heterogéneo.

LA FORMULACIÓN DEL AGENTE DE BIOCONTROL *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8, UN ANTAGONISTA FRENTE A *Monilinia* spp., COMO PUNTO CLAVE EN EL DESARROLLO DE UN BIO-FUNGICIDA

Gotor-Vila, A., Usall, J., Torres, R., Solsona, C., Abadías, M., Teixidó, N.

IRTA, XaRTA-Postcollita, Edifici Fruitcentre, Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida, 25003 Lleida. amparo.gotor@irta.cat

Bacillus amyloliquefaciens CPA-8 ha mostrado tener una potente actividad antagonista frente a la podredumbre marrón causada por el hongo *Monilinia* spp. Su uso se plantea como un potencial tratamiento alternativo a los fungicidas químicos. Para el desarrollo de un producto basado en CPA-8, en este trabajo se han comparado tres diferentes tecnologías de formulación: líquida, liofilización y lecho fluido-atomizador; siendo esta última llevada a cabo en un innovador equipo que combina las tecnologías de lecho fluido y atomización. Hemos evaluado: i) la supervivencia de CPA-8 tras cada proceso de formulación; ii) la vida útil del producto formulado y almacenado a diferentes temperaturas; y iii) la efectividad de cada formulación en el control de la podredumbre marrón en fruta de hueso. Para cada formulación, se estudió el efecto de diferentes sustancias protectoras como MgSO₄, sacarosa y leche en polvo. Los resultados mostraron que las células de CPA-8 sufrían daños mayores durante el proceso de liofilización, siendo más acusados cuando no se adicionaron sustancias protectoras a la formulación. Se observó una ligera reducción de la supervivencia de las células liofilizadas tras 4 meses de almacenaje a 4 y 22 °C. La formulación líquida y la de lecho fluido-atomizador, no mostraron pérdidas notables de viabilidad de CPA-8 después de 4 meses de conservación a 4 °C y 12 meses a 22, 4 y -20 °C, respectivamente. En ambas tecnologías, no se observó efecto por la adición de protectores. Las mejores formulaciones se evaluaron en nectarinas infectadas artificialmente con *Monilinia laxa* y *M. fructicola*. Los resultados de efectividad demostraron que el proceso de formulación no afecta a la actividad antagonista de CPA-8, presentando siempre resultados comparables a los obtenidos con células frescas. Se ha obtenido, en conclusión, unas formulaciones adaptadas a CPA-8 que actualmente están siendo optimizadas y estudiadas en ensayos comerciales de campo en diferentes países europeos productores de fruta de hueso.

Esta investigación está financiada por un proyecto europeo BIOCOMES FP7-612713 y por una beca de doctorado AGAUR 2015-FI-B100166 (A. Gotor-Vila). Agradecimientos a la Unión Europea y a la Generalitat de Catalunya, respectivamente.

NUEVA HERRAMIENTA PARA EL BIOCONTROL DE *Ralstonia solanacearum*: ACCIÓN LÍTICA DE BACTERIOFAGOS ESPECÍFICOS EN AGUA DE RIEGO

Álvarez, B.^{1,2}, López, M.M.¹, Biosca, E.G.²

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera Moncada-Náquera km 4,5, 46113 Moncada, Valencia, mlopez@ivia.es

² Departamento de Ecología y Microbiología, Universidad de Valencia (UVEG), Avda. Dr. Moliner 50, 46100 Burjasot, Valencia, elena.biosca@uv.es

Ralstonia solanacearum produce marchitez bacteriana en solanáceas, siendo una amenaza para cultivos estratégicos como patata o tomate. Tras destruir al huésped, este patógeno puede sobrevivir y diseminarse a través de cursos de agua, creando un problema al agricultor ya que, al ser un organismo de cuarentena en la Unión Europea, está prohibido el uso para riego de agua contaminada con *R. solanacearum*. Ante esta situación, se ha desarrollado un nuevo y eficiente método de control de *R. solanacearum* que ha permitido solicitar una patente (nº P201530730). Consiste en la aplicación al agua de riego de bacteriófagos con acción lítica específica contra el patógeno. Los bacteriófagos se aislaron de agua de varios ríos y se caracterizaron por su morfología, secuencia genómica, familia y se determinó su especificidad y actividad lítica en distintas condiciones ambientales. Igualmente se evaluó su eficiencia en el biocontrol de *R. solanacearum*, tanto en agua de riego como en plantas huésped regadas con el patógeno solo o con diferentes combinaciones de los bacteriófagos. En todos los ensayos hubo un descenso en la incidencia de marchitez e incluso ausencia de enfermedad en muchos de ellos. Los bacteriófagos se han escalado en planta piloto y tras su bioproducción mantienen su capacidad de biocontrol. Esta nueva herramienta para la prevención y control de la marchitez bacteriana es fácil de aplicar en campo y tiene menor impacto ambiental y restricciones legales que los tratamientos químicos.

Financiación: IVIA y UVEG (proyecto CPI-14-244, Programa “Valoritza i transfereix”)

SESIONES SIMULTÁNEAS

SESIONES SIMULTÁNEAS I
TEATRO PRINCIPAL (C)
CONTROL

RESISTENCIA A COBRE Y DODINA EN CEPAS DE *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: NUEVO OBSTÁCULO PARA EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS DEL OLIVO

Miranda de Fuentes, P., Roca, L.F., Raya, M.C., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio C-4, 14071, Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

La Tuberculosis del olivo, causada por la bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), es una enfermedad extendida por todas las zonas olivareras del mundo, provocando pérdidas en el rendimiento y en la calidad del aceite. La naturaleza del agente causal, que coloniza de manera epífita la planta y causa infecciones en las heridas que ésta sufre, obliga a aplicar tratamientos químicos, los cuales se llevan a cabo exclusivamente con productos cúpricos, al ser el cobre la única materia activa autorizada para su control. Sin embargo, se ha constatado dificultad en el control de la enfermedad en algunos olivares pese a la aplicación de un alto número de tratamientos anuales.

En el presente trabajo se evaluó in vitro la tolerancia al cobre de cepas de Psv aisladas de diferentes plantaciones de olivar naturalmente infectadas, a fin de determinar si la mencionada dificultad en el control podría deberse al desarrollo de resistencia en el patógeno. El resultado ha puesto de manifiesto la presencia de cepas resistentes al cobre en zonas productoras de Portugal, cepas con alta tolerancia en Andalucía y una correlación altamente significativa entre tolerancia al cobre y número de tratamientos anuales en campo con productos cúpricos.

Asimismo, se evaluó in planta la eficacia de la dodina (surfactante iónico de conocida acción bactericida registrado recientemente en olivar para su empleo como fungicida) en el control de la tuberculosis, determinando además la tolerancia a la misma de distintas cepas de la bacteria. Éstas mostraron un amplio abanico de tolerancia, existiendo algunas naturalmente resistentes a este elemento sin exposición previa al mismo y otras muy sensibles, lo que condicionó la efectividad de esta materia activa frente a la infección.

MODULACIÓN DE LA INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO MEDIANTE PÉPTIDOS SINTÉTICOS MULTIFUNCIONALES

Ruz, L.¹, Montesinos, L.¹, Badosa, E.¹, Gascón, B.¹, Planas, M.², Feliu, L.², Montesinos, E.¹

¹ Instituto de Tecnología Agroalimentaria-CIDSAV-XaRTA, Universidad de Girona.

² LIPPSO, Departamento de Química, Universidad de Girona.

Ciertos péptidos sintéticos son capaces de actuar de forma indirecta protegiendo las plantas de los patógenos, mediante la inducción de genes de defensa implicados tanto en la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR), como en la Resistencia Sistémica Inducida (ISR). En este trabajo se han identificado péptidos sintéticos estimuladores de defensas pertenecientes a las quimiotecas CECMEL11 (PAMs lineales de 11 aminoácidos derivados de un híbrido cecropina A (2-8)-Melitina (6-9), y derivados para su expresión en plantas) o CYCLO10 (PAM's cíclicos de 10 aminoácidos derivados de c(KLKLKFKLKQ)). En estudios anteriores estos péptidos mostraron actividad antimicrobiana frente bacterias fitopatógenas, baja hemólisis y baja fitotoxicidad. Se seleccionaron 50 péptidos, tanto con actividad antimicrobiana como no activos, y se realizó un primer cribado donde se estudió la producción de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y alcalinización del medio en células de tabaco BY2, ambos mecanismos relacionados con la activación de mecanismos de defensa en las plantas. Además, como control, se sintetizó y incluyó en el estudio un péptido derivado de la flagelina (flagelina 15) que actúa como mensajero molecular en la activación de mecanismos de defensa de la planta (MAMPs). El tratamiento de las células BY2 con los péptidos BP100, BP143, BP13, BPC200W, BP178 y flagelina 15 desencadenó el mayor incremento de niveles de H₂O₂ y alcalinización del medio. Los péptidos BP178 y flagelina 15 se sometieron a un análisis más exhaustivo, consistente en el estudio de los perfiles de expresión génica en tomate mediante microarrays. Éste permitió obtener información sobre los cambios transcripcionales que se producen tras el tratamiento con BP178 o flagelina 15. Así mismo, se realizaron análisis de la expresión de genes de resistencia a patógenos y estrés abiótico en plantas de tomate sometidas a tratamiento con ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno. A partir de los resultados obtenidos del estudio de transcriptómica, se escogieron 30 genes que mostraron alteraciones en su expresión, y se planteó un nuevo diseño basado en análisis RT-qPCR. El estudio confirmó el efecto de los péptidos BP100, BP143, BP13, BPC200W, BP178 y flagelina 15 en la activación de las rutas del salicílico, jasmónico y etileno. Además, las plantas tratadas con dichos péptidos mostraron una menor sensibilidad a infecciones causadas por *Xanthomonas arboricola* pv. vesicatoria.

BIESTABILIDAD EN LA EXPRESIÓN DE GENES DEL SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III DE *Pseudomonas syringae*

Jose S. Rufián¹, Maria A. Sánchez-Romero², Diego López-Márquez¹, Nieves López-Pagán¹, Javier Ruiz-Albert¹, Josep Casadesús² y Carmen R. Beuzón¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. 29071, Málaga. rufian@uma.es

² Departamento de Genética. Facultad de Ciencias. Universidad de Sevilla. 4108, Sevilla.

La heterogeneidad o variación fenotípica en bacterias es un fenómeno descrito en poblaciones bacterianas desde hace décadas. Puede estar determinada por mecanismos epigenéticos, y dar lugar a linajes bacterianos con perfiles de expresión génica diferentes. Un patrón de expresión génica heterogéneo puede llegar a volverse bimodal en ambientes homogéneos, dando lugar a la formación de linajes en poblaciones clonales. A este proceso se le conoce como bistabilidad, y ejemplos de bistabilidad se encuentran en la regulación del operon *lac* en *E. coli*, o la regulación del establecimiento de lisis o lisogénia en el fago Lambda. A pesar de ejemplos tan paradigmáticos, el estudio de patógenos ha seguido analizando poblaciones enteras y definiéndolas en función de sus valores medios. El reciente desarrollo de métodos de análisis como la microscopía confocal, la citometría o la microfluídica, ha llevado a la identificación de nuevos ejemplos de variación fenotípica y de biestabilidad. La relevancia de estos procesos se ha demostrado en *Salmonella entérica* y otros patógenos humanos al establecerse su papel en la persistencia a antibióticos, y su implicación en la aparición de portadores crónicos. No obstante, se conoce muy poco sobre la relevancia de este tipo de procesos en el proceso de adaptación a huéspedes no animales.

Pseudomonas syringae es una bacteria fitopatógena cuya virulencia depende del Sistema de Secreción Tipo III (T3SS). Mediante fusiones transcripcionales a *gfp* generadas en el genoma de *P. syringae* pv. *phaseolicola*, y el uso de microscopía de fluorescencia y citometría de flujo, hemos analizado la expresión de genes del T3SS. Hemos demostrado que la expresión del T3SS es heterogénea en el interior de la planta y biestable en medio mínimo. Este proceso es reversible, y depende de la fase de crecimiento. Subpoblaciones bacterianas separadas según niveles de expresión muestran diferencias en virulencia.

EL PLÁSMIDO pPsv48C ES ESENCIAL PARA LA PRODUCCIÓN DE TUMORES EN OLIVO Y MANTIENE SU ESTRUCTURA GRACIAS A TRES SISTEMAS TOXINA-ANTITOXINA

Añorga, M.¹, Pintado, A.², Bardaji, L.¹, Ramos, C.², Murillo, J.¹

¹ Laboratorio de Patología Vegetal, ETS Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona; E-mail: jesus.murillo@unavarra.es

² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos s/n, 29010; E-mail: crr@uma.es

La cepa modelo *P. savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB3335 contiene tres plásmidos nativos (pPsv48A, 78 kb; pPsv48B, 45 kb, y pPsv48C, 42 kb) que portan genes de virulencia, incluyendo dos genes potencialmente implicados en la biosíntesis de citoquininas, *ptz* (potencial isopentenil transferasa, en pPsv48A) e *ipt* (posible isopentenil difosfato delta isomerasa, en pPsv48C). Mediante inactivación funcional de sistemas de mantenimiento de pPsv48C, hemos obtenido la cepa UPN912, curada de los tres plásmidos nativos y que no desarrolla tumores en plantas de olivo. La complementación de UPN912 indica que los genes *ptz* e *ipt* actúan conjuntamente y son esenciales para la producción de tumores *in planta*, posiblemente dirigiendo la biosíntesis de citoquininas. A 8 kb del gen *ipt* se encuentra una copia del elemento CRR1, derivado de IS801, que se acompaña de un segundo origen de replicación (replicón *repJ*). Hemos demostrado que CRR1 genera transposiciones terminales, que se inician en su extremo derecho y terminan a una distancia variable del extremo 5', produciendo plásmidos que se replican autónomamente debido a *repJ* y que contienen deleciones de tamaño variable. Utilizando un cassette que contiene un gen de resistencia a kanamicina y otro de sensibilidad a sacarosa (*sacB*), e insertado 3' de CRR1, hemos determinado que se generan clones resistentes a sacarosa en la cepa silvestre con una frecuencia media de $1.8 \pm 0.7 \times 10^{-4}$, y que aproximadamente la mitad contiene deleciones que incluyen el gen *ipt*. La inactivación funcional de los tres sistemas toxina-antitoxina de pPsv48C da lugar a un aumento promedio de tres veces en la frecuencia de las deleciones, de las cuales el 80 % ha perdido el gen *ipt*. En conjunto, nuestros resultados indican que CRR1 genera variantes plasmídicas de deleción con alta frecuencia, y que la posesión de tres sistemas toxina-antitoxina favorece la preservación de la estructura del plásmido y la retención de un gen de virulencia esencial para la producción de enfermedad.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2014-53242-C2-1-R y AGL2014-53242-C2-2-R del MINECO (cofinanciados por FEDER).

EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD AL FUEGO BACTERIANO DE LA PROGENIE DE ‘MEANA’ X ‘FLORINA’

Enrique Dapena¹, María Fé Marcos², Iván Fernández², M^a Dolores Blázquez¹, M^a Piedad Campelo², Alicia Lorenzana², Eva M^a Gómez-Bernardo²,

¹SERIDA, Programa de Fruticultura, Carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias, edapena@serida.org

²ESTIA- Universidad de León. Laboratorio de Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales., Avda. Portugal nº 41 24071 León

El fuego bacteriano (FB) es una grave enfermedad del manzano, causada por la bacteria *Erwinia amylovora* (Burril) Winslow et al., presente en España desde 1995, está extendida principalmente en regiones del Noreste y Castilla y León. En el SERIDA se inició en el año 1989 un programa de mejora genética de variedades de manzano de sidra, uno de cuyos objetivos era la obtención de variedades de baja sensibilidad al FB. En este trabajo se abordó la evaluación de la sensibilidad al FB en una población del cruzamiento realizado entre la variedad local amargo-ácida ‘Meana’ y la variedad ‘Florina’, resistente a moteado, a pulgón ceniciento y con baja sensibilidad al FB. Previamente, se evaluó la agresividad de cinco aislados de *E. amylovora* prospectadas en la provincia de León, resultando dos de ellas las más agresivas. La evaluación de la incidencia al FB, se llevó a cabo en un invernadero de la ESTIA de León sobre seis plantas de cada uno de los genitores, tres variedades de referencia y 154 descendientes de la progenie de ‘Meana’ x ‘Florina’ mediante una inoculación con el aislado elegido “PJA1”. En cada una de las plantas se determinó la incidencia (longitud del brote afectado por FB respecto a la longitud total del brote). Los resultados, expresados como incidencia media \pm SE, muestran un gradiente de sensibilidad entre los descendientes de esta progenie, entre el genitor más resistente ‘Florina’ ($25,0 \pm 11,8$) y la variedad local ‘Meana’ ($95,4 \pm 8,1$), que presentó una elevada sensibilidad al FB. Cinco obtenciones presentaron un nivel de resistencia al FB más alto que ‘Florina’, mientras que sólo un descendiente resultó más sensible que ‘Meana’.

Trabajo financiado por INIA y FEDER (proyecto RTA2012-00118-C03-01).

PATOGENICIDAD DE ESPECIES DE *Pythium* Y *Phytophthora* EN PIMIENTO.

Pérez-Hernández, A.¹, Fernández-Martín, A.¹, Aguilera-Lirola, A.², Gómez-Vázquez, J.¹, de Cara-García, M.¹

¹IFAPA. Centro La Mojonera. 04745, Almería. franciscom.cara@juntadeandalucia.es

²SCA Campoadra. Avenida de la legión española 2. Puente del Río, Adra. 04779, Almería.

La cuenca hidrográfica de la Vega de Adra permite el riego de 1365 ha de cultivo intensivo, destinado principalmente al pimiento en rotación con melón o sandía. Dicha cuenca cuenta con el Río Adra y sus afluentes, que parten de las estribaciones de Sierra Nevada, y cuyas aguas se acumulan en el embalse de Benínar, que a su vez surte las diferentes comunidades de regantes de esta vega. En este trabajo se realizó una prospección en diferentes localizaciones de dicha cuenca, mediante trampeo para oomicetos en las aguas, tanto fluyentes como embalsadas, que permitió el aislamiento de 15 aislados de *Phytophthora* y 28 de *Pythium*. A este muestreo se añadieron otros aislados de ambos géneros asociados a plantas de pimiento de diferentes invernaderos de la zona que presentaban marchitez y necrosis de cuello y/o raíces. Una vez purificados e identificados los aislados se procedió a su inoculación en condiciones de invernadero de ambiente controlado en agosto en pimiento cv. Melchor. Se realizaron dos ensayos de inoculación mediante riego del sustrato. Ambos ensayos siguieron un diseño en bloques con cuatro repeticiones con los tratamientos distribuidos al azar. En el primer ensayo se inocularon 59 aislados diferentes cuando las plantas tenían 1-3 hojas verdaderas, mientras que en el segundo fueron inoculados 24 aislados que mostraron patogenicidad en el primer ensayo, sobre plantas con 4-6 hojas verdaderas. Del total de aislados estudiados, 23 produjeron síntomas de chancro en la base del tallo, marchitez y muerte de las plantas, siendo identificados como *Phytophthora capsici*. Otros 8 aislados produjeron marchitez reversible y un significativo menor crecimiento de la planta, perteneciendo todos ellos a la especie *Pythium aphanidermatum*. Ninguna de las otras ocho especies de oomiceto halladas en las aguas resultó patógena en los experimentos.

SESIONES SIMULTÁNEAS I
DIPUTACIÓN PROVINCIAL (D)
INTERACCIÓN PLANTA- ORGANISMO

APROXIMACIÓN FUNCIONAL AL EFECTO SUPRESIVO DE LA CÁSCARA DE ALMENDRA COMPOSTADA APLICADA AL CULTIVO DEL AGUACATE

Vida, C., de Vicente, A., Cazorla, F.M.

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea " La Mayora ", Universidad de Málaga, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM - UMA- CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, España. E-mail: cvida@uma.es.

La podredumbre blanca de la raíz, causada por el hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix*, es uno de los problemas más graves del cultivo del aguacate en el área mediterránea. Desde hace años, el manejo integrado de la enfermedad ha incluido la aplicación de enmiendas orgánicas como estrategia para mejorar el estado fitosanitario de los suelos agrícolas. En este trabajo, se llevaron a cabo ensayos "in vitro" frente a *R. necatrix* para evaluar la capacidad supresiva de los suelos enmendados con cáscara de almendra compostada, así como la implicación de la microbiota del suelo en la misma. Los resultados muestran que la adición de cáscara de almendra compostada al suelo, causa un aumento de la supresividad frente a *R. necatrix* asociada a la microbiota. El uso de técnicas de genómica molecular nos ha permitido conocer la composición y el potencial funcional de la microbiota de estos suelos. Estos análisis revelaron el predominio en la comunidad microbiana de representantes de los phyla *Proteobacteria* y *Acidobacteria* (que suponen más del 50% de las cepas bacterianas identificadas) y del phylum *Ascomycota* (40% de representantes fúngicos). Por otro lado, el uso de un microarray comercial (GeoChip), mostró la activación del ciclo del carbono a diferentes niveles y su implicación en la selección de grupos concretos de microorganismos, como los representantes de la clase *Gammaproteobacteria*. Finalmente, hemos realizado el aislamiento y caracterización de microorganismos cultivables con el fin de determinar su participación en el biocontrol de la enfermedad, lo que nos permitirá profundizar en el conocimiento de los posibles mecanismos implicados en la supresividad mediante técnicas de transcriptómica y proteómica.

*Este trabajo está siendo financiado por el Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Economía (MINECO) (AGL2014-52518-C2-IR) y cofinanciado por los fondos FEDER (EU). C. Vida está siendo financiada con una ayuda del programa FPI del MINECO.

CONTROL BIOLÓGICO DE *Verticillium dahliae* por *Penicillium rubens* (PO212) EN ALCACHOFA Y BERENJENA

Carreras, M., Herranz, Y., Conejero, L., Melgarejo, P., De Cal, A., Larena, I.

Departamento de Protección Vegetal, SGIT-INIA, Carretera de La Coruña 7, 28040, Madrid. ilarena@inia.es

Una importante limitación de la aplicación comercial de los productos biológicos, es su reducido espectro de actividad, sobre todo si se compara con los productos químicos de síntesis. *Penicillium rubens* (PO212) (anteriormente *P. oxalicum*) es un agente de biocontrol que ha sido seleccionado por nuestro equipo de investigación en base a su eficacia en el control de enfermedades del suelo en cultivos hortícolas. En este ámbito, la marchitez causada por *Verticillium* se está convirtiendo en una preocupación creciente en la producción de alcachofa y berenjena por su rápida propagación y dificultad de control. Todo ello nos llevó a plantearnos ampliar el espectro de acción de PO212 frente a *Verticillium dahliae* en cultivos de berenjena y alcachofa.

Para ello se realizaron ensayos de eficacia en cámaras de cultivo con condiciones controladas de temperatura y humedad empleando plantas de berenjena y alcachofa. En el caso de berenjena se emplearon semillas cv. 'Alegría F1'. Para los ensayos de alcachofa se emplearon plantas pre-germinadas de la variedad 'Lorca'. Se evaluaron distintas formas de aplicación de conidias de PO212 a una concentración de 6×10^6 conidias por g de sustrato de semillero o por ml (riego, inmersión y pulverización), y diferentes momentos de aplicación. También se evaluó la eficacia de PO212 frente a distintas dosis del patógeno (10^6 , 10^7 y 10^8 conidias por ml). Las plantas tanto de berenjena como de alcachofa ya tratadas con PO212 se inocularon con el patógeno mediante inmersión de la raíz en una suspensión de conidias. Inmediatamente después fueron trasplantadas a macetas individuales conteniendo una de mezcla turba/perlita (1:1 v/v), llevando 10 plantas por distinto tipo de tratamiento. Los resultados iniciales muestran una reducción significativa ($p < 0,05$) de la incidencia y gravedad de la marchitez causada por *V. dahliae* en berenjena tratada con PO212 frente a las plantas inoculadas con el patógeno y no tratadas, así como un incremento significativo ($p < 0,05$) en el peso fresco de la raíz y en el número de hojas. Por otra parte, las plantas de alcachofa tratadas con PO212 mediante inmersión de la raíz 48 h antes de la inoculación con el patógeno (72%), mostraron una gravedad de la enfermedad significativamente ($p < 0,05$) menor que las plantas control inoculadas y no tratadas (96%). Las plantas de alcachofa tratadas mediante riego 7 días antes de la inoculación también mostraron un menor porcentaje de gravedad (84%) de la enfermedad que las plantas control inoculadas y no tratadas (96%). Se discutirán los resultados de eficacia frente a diferentes dosis del patógeno en este momento en análisis.

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto RTA2013-00060-C05-01

USO DE PATRONES RESISTENTES PARA EL CONTROL DE LA VERTICILOSIS DEL OLIVO

Valverde-Caballero, P.¹, Trapero, C.¹, Arquero, O.², Serrano, N.², Roca, L.F.¹, López-Escudero, F.J.¹.

¹ Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071, Córdoba, Spain. ² IFAPA, Centro Alameda del Obispo, 14080, Córdoba.

El uso de patrones de olivo resistentes podría ser una herramienta eficaz para el control de la Verticilosis del olivo ya que la mayoría de las variedades de interés son muy susceptibles. En este trabajo, se estableció una plantación (Diciembre 2011) en un suelo altamente infestado por *V. dahliae* (21 MS/g) (Utrera, Sevilla). El 100% de los aislados recuperados del suelo eran de elevada virulencia (defoliantes). Se evaluaron 13 combinaciones patrón/variedad; las resultantes de usar como patrón o variedad a 'Picual' (susceptible), 'Arbequina' (moderadamente susceptible), 'Changlot Real' y 'Frantoio' (resistentes). Se incluyeron 6 bloques con 2 plantas de cada combinación por bloque. La enfermedad se evaluó periódicamente durante más de 4 años. Hasta los 16 meses después de la plantación los patrones resistentes protegieron a las variedades susceptibles injertadas, no advirtiéndose síntomas de VO, mientras que plantas de 'Picual', incluidas como control en el experimento, alcanzaron valores de incidencia cercanos al 35%. Sin embargo a partir de este momento comenzaron a aparecer síntomas sobre las variedades injertadas, particularmente en 'Picual'. En marzo de 2016 todas las plantas del experimento mostraban síntomas, con diversos grados de severidad y una mortalidad media del 43.2%. Las plantas más afectadas tenían a 'Picual' como patrón (mortalidad=83.2%), independientemente de la resistencia de la variedad. 'Frantoio' como patrón redujo al 24% la mortalidad. El patógeno estaba presente en los tejidos del patrón y de la variedad en todas aquellas plantas sintomáticas. La coloración oscura (necrosis del xilema) fue un síntoma siempre asociado a 'Picual', actuando como patrón o injerto, mientras que estaba ausente o era solo muy ligera en los genotipos resistentes. Los resultados demuestran que una elevada presión de enfermedad puede superar con el tiempo la resistencia inicialmente conferida por el patrón resistente, dando lugar al desarrollo de síntomas severos en la variedad injertada susceptible.

ANTAGONISMO *in vivo* DE HONGOS ENDÓFITOS FRENTE A *Fusarium Circinatum*.

Fernández-González R. A.^{1,2}, Martínez-Álvarez P.^{1,2}, Díez J. J.^{1,2}

¹ Instituto Universitario de Investigación de Gestión Forestal Sostenible. Universidad de Valladolid- INIA. Avda. Madrid s/n, 34004 Palencia (Palencia).

² Dpto. de Producción Vegetal y Recursos Forestales. E.T.S. de Ingenierías Agrarias, Avda. Madrid 57, 34004 Palencia (Palencia).

La enfermedad del Chancro Resinoso del Pino (CRP) es en la actualidad, una enfermedad extendida a nivel mundial. El organismo causante de dicha enfermedad es un hongo ascomicete denominado *Fusarium circinatum*, y el hospedante más susceptible a ésta es *Pinus radiata*. En junio de 2012 se realizó una plantación de 1500 plantas de pino (*P. radiata*, *P. sylvestris*, *P. pinaster*, *P. pinea*, *P. nigra*) de dos savias en un monte de Cantabria donde ya había sido detectado anteriormente el patógeno. En julio de 2013 se realizó primero la inoculación de las plantas con seis endófitos (seleccionados de un estudio previo) y posteriormente, en septiembre del mismo año, con el patógeno. Se estudiaron un total de 14 tratamientos diferentes, resultado de enfrentar los 6 endófitos con el patógeno más los controles. Se realizaron cuatro visitas a la parcela de ensayo y se evaluaron los daños causados por el patógeno a partir de la variable AUDPC (área debajo de la curva de la enfermedad), que se empleó en un análisis de la varianza (ANOVA). Los resultados obtenidos confirmaron que *P. radiata* es la especie de pino más susceptible a *F. circinatum*. Igualmente *P. sylvestris* y *P. pinaster* resultaron susceptibles a la enfermedad. Dos de los seis aislamientos de hongos endófitos evaluados, (*Chaetomium aureum* y *Alternaria* sp.), redujeron significativamente los síntomas de *F. circinatum* sobre *P. radiata*, por lo que pudieran ser utilizados como potenciales agentes de control biológico de la enfermedad del CRP.

BENEFICIAL EFFECTS OF AN ENDOPHYTIC FUNGUS IN *Ulmus minor* AGAINST INVASION BY *Ophiostoma novo-ulmi*

Sobrino-Plata, J.¹, Fernández, I.², Medel, D.¹, Ormeño, S.M.¹, Coira, B.¹, Collada, C.¹, Martín, J.A.¹, Pieterse, C.M.J.², Gil, L.¹

¹ Forest Genetics, Physiology and History Research Group, Forestry Engineering School, Technical University of Madrid, Madrid, Spain. juan.sobrin@upm.es

² Plant-Microbe Interactions, Department of Biology, Utrecht University, Utrecht, Netherlands.

Dutch elm disease (DED) is possibly the most devastating forest disease worldwide. DED, caused by the invasive alien pathogen *Ophiostoma novo-ulmi*, has decimated *Ulmus minor* populations in Europe. One of the main constraints in searching DED-tolerant genotypes is the long period needed to evaluate the susceptibility of each tree. The screening should be done with trees of at least 4 years old, since at lower ages trees show juvenile tolerance. Improving elm breeding and efficacy in restoring elms at a large scale requires first to shorten this selection process. Furthermore, we have recently found that the abundance of certain elm endophytes is strongly associated to the tolerance level of their host tree to *O. novo-ulmi*. Using the transcriptome from a previous work published by our team we studied changes in expression of selected genes related to biotic interaction responses, as well as concomitant changes in the physiology of the plants. This study was performed with elm plantlets grown *in vitro* of well characterized tolerant and susceptible clones. We studied plant responses to (i) inoculation with *O. novo-ulmi* and (ii) pre-inoculation with an endophytic fungus associated to DED-tolerant clones, followed by inoculation with the pathogen. In treatment (i) we observed a higher expression of PR4 (pathogenesis-related protein 4) in roots of tolerant clones compared to susceptible ones. Moreover, an overexpression of phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene was shown in all the studied genotypes. This effect was attenuated when the plants were pre-inoculated with the endophyte, suggesting a beneficial effect. The inoculation of this fungus also promoted plant growth and reduced the stress caused by the pathogen in all genotypes. These results contribute to understand the molecular basis of *U. minor* tolerance to DED and the role played by endophytic fungi, opening new prospects for a future molecular-assisted selection of tolerant genotypes.

Castanea sativa* ANTE EL CAMBIO GLOBAL: IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS TOLERANTES AL ESTRÉS HÍDRICO Y A NUEVAS ESPECIES DE *Phytophthora

Solla, A.¹, Martín, M.A.¹, Camisión, A.¹, Alcaide, F.¹, Abad-Campos, P.², Català, S.², Mora-Sala, B.², Cuenca, B.³

¹ Instituto de Investigación de la Dehesa; Ingeniería Forestal y del Medio Natural, Universidad de Extremadura, Av. Virgen del Puerto 2, 10600 Plasencia. asolla@unex.es; angelamartin@unex.es

² Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. pabadcam@eaf.upv.es

³ TRAGSA, Vivero de Ourense, Ctra. Maceda-Valdrey km 2, 32700 Maceda, Ourense bcuenca@tragsa.es

En los últimos años el castaño (*Castanea sativa* Mill.) experimenta una creciente mortalidad debido a la presencia de nuevas especies de *Phytophthora* introducidas, y a las actuales circunstancias de cambio climático. Por un lado se ignora la influencia de la temperatura creciente y de escenarios cambiantes de estrés hídrico y encharcamiento en la susceptibilidad de *C. sativa* a *Phytophthora*. Por otro lado, hay una demanda generalizada por parte de los castañicultores del centro y sur peninsular de material vegetal tolerante a los escenarios cada día más frecuentes del cambio global. En el marco de un proyecto coordinado I+D+I orientado a los Retos de la Sociedad (convocatoria 2014) se plantean los siguientes tres retos: (1) Elucidar las actuales causas de mortalidad del castaño. En castañares de tres tipologías (naturales, de fruto y tallares) ubicados en cuatro regiones biogeográficas distintas, se identificaron las especies de *Phytophthora* presentes en la rizosfera mediante aislamiento y secuenciación masiva de amplicones (*metabarcoding*) usando la plataforma Illumina MiSeq, y se recogieron castañas para realizar bioensayos que simulan diferentes escenarios de cambio climático. (2) Comprender mejor las interacciones estrés hídrico x encharcamiento x *Phytophthora*. Para ello, brinzales de castaño se sometieron a escenarios cambiantes de estrés hídrico y encharcamiento, y fueron objeto de análisis de expresión génica mediante PCR cuantitativa, perfil hormonal y bioquímico. (3) Realizar una primera selección de genotipos de *C. sativa* nativos tolerantes al estrés hídrico y a *Phytophthora*, aptos para ser utilizados en el interior y sur peninsular. Para ello se hizo una primera selección de castaños en campo con marcadores EST-SSRs, y la resistencia de los brinzales se constató en invernadero.

Financiación: Ministerio de Economía y Competitividad. Programa Estatal I+D+i, proyecto AGL2014-53822-C2-R

SESIONES SIMULTÁNEAS I
ABILIO CALDERÓN (A)
ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

DIVERSITY OF MYCOVIRUSES IN *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*: CHARACTERIZATION OF A NEW MEMBER OF THE FAMILY HYPOVIRIDAE

Trenas, A.T.^{1,2}, Cañizares, M.C.², Lemus-Minor, C.G.¹, García-Pedrajas, M.D.², Pérez-Artés E¹.

¹ Depto. Protección de cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IAS-CSIC), Alameda del Obispo s/n, 14004 Córdoba, España (a.torres.trenas@csic.es, cglemus@ias.csic.es, eperezartes@ias.csic.es)

² Depto. Protección de plantas, Instituto de Hortifruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), 297550 Algarrobo-Costa, Málaga, España (carmen.canizares@eelm.csic.es, mariola@eelm.csic.es)

The interest in fungal viruses (mycoviruses) is increasing because of their potential contribution to sustainable agriculture as biological control agents of pathogenic fungi. Previously we identified and characterized FodV1, a chryso-like mycovirus which induces hypovirulence in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (*Fod*). FodV1 accumulates at unusually high levels in the host and was detected in total nucleic acid samples. To further identify viruses in *Fod*, in this work we applied cellulose column chromatography to analyze the incidence of mycoviral dsRNA molecules in a wide collection of isolates from different geographic origin (Colombia, Morocco, and Spain). A total of 300 isolates were analyzed by this technique, finding evidence of viral infection in 40 of them. These isolates exhibited five different dsRNA banding patterns characteristic of different viral families. A mycovirus representative of each dsRNA banding pattern was selected for molecular characterization. Initial sequence data shows that a monopartite 2 kb mycovirus corresponds to a mitovirus and that a 4 dsRNA segment virus corresponds to a member of the newly proposed family *Alternaviridae*. Very interestingly, one of the dsRNA patterns identified corresponded to a single segment of approximately 9 kb, thus potentially corresponding to a member of the family *Hypoviridae* which has been clearly associated to hypovirulence. Two *Fod* isolates from Morocco exhibited this pattern. Partial sequencing of this new mycovirus confirmed its similarity with other previously described hypoviruses. This is the first report of a member of the family *Hypoviridae* in the species *F. oxysporum*. In order to analyze its effect on the fungal host, we have transferred it from its naturally infected isolate to a *hygR*-tagged isolate by hyphal anastomosis. Phenotypic differences of the versions with and without virus of the recipient isolate will be investigated in order to determine the putative hypovirulent nature of this new hypovirus.

* Research supported by Grant AGL 2013-48980-R, from the Spanish Ministry of Science and Innovation, co-funded by the European Union (FEDER funds)

LA VARIABILIDAD Y LA INTERFERENCIA ENTRE VARIANTES DE SECUENCIA DEL VIROIDE DEL MOSAICO LATENTE DEL MELOCOTONERO DIFICULTAN SU ANÁLISIS POR TAQMAN RT-PCR

Serra, P.¹, Bertolini, E.^{2,3}, Martínez, M.C.², Cambra, M.², Flores, R.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad Politécnica de Valencia, España. pedseral@upvnet.upv.es

² Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada, Valencia, España.

³ Departamento de Fitossanidade, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

A pesar de su mínimo RNA genómico (250-400 nt) y carencia de capacidad codificante, los viroides infectan y frecuentemente causan enfermedades en sus plantas huésped. Como otros miembros de la familia *Avsunviroidae*, el viroide del mosaico latente del melocotonero (PLMVd) se replica en plastidios por un mecanismo de círculo rodante. Para parasitar la maquinaria de transcripción y procesamiento de su huésped, el PLMVd depende de motivos estructurales entre los que, además de las ribozimas de cabeza de martillo que median su replicación, destaca una interacción entre bucles crítica para estabilizar la conformación ramificada de la cadena más abundante *in vivo*. Las poblaciones naturales del PLMVd son mezclas complejas de variantes de secuencia, probable consecuencia de la baja fidelidad de la RNA polimerasa plastídica implicada en su síntesis. Durante un análisis rutinario, la amplificación TaqMan rtRT-PCR y la hibridación Northern produjeron resultados discordantes con algunos aislados de PLMVd. El clonado y secuenciación de las poblaciones de estos últimos reveló que están solamente compuestas por variantes (de clase II) con un motivo de secuencia distinto (pero de estructura secundaria similar que preserva la interacción entre bucles) del de la variante de referencia y de otras muchas variantes (de clase I), que es la diana de la sonda TaqMan rtRT-PCR. Bioensayos en melocotonero GF-305 mostraron que una variante representativa de la clase II se replica de manera asintomática y que, inesperadamente, excluye completamente a otra sintomática representativa de la clase I al coinocularlas equimolecularmente. Se han identificado una serie de posiciones informativas asociadas a la mayor eficacia biológica de las variantes de clase II, y se han diseñado unos nuevos cebadores y sonda para detectar ambas clases de variantes mediante TaqMan rtRT-PCR. Estos resultados alertan sobre los riesgos de técnicas de detección basadas en un pequeño fragmento del genoma del patógeno.

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DEL MOSAICO DE LA ALFALFA EN ALFALFARES DEL VALLE DEL EBRO A LO LARGO DE SU CULTIVO

Monge, P.¹, Escriu, F.^{1,2}

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avenida de Montañana, 930, 50059 Zaragoza, España.

² Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (CITA – Universidad de Zaragoza), Avenida de Montañana, 930, 50059 Zaragoza, España.

El virus del mosaico de la alfalfa (*Alfalfa mosaic virus*, AMV, género *Alfamovirus*, familia *Bromoviridae*) se encuentra distribuido por todo el mundo a través de su principal huésped natural, la alfalfa, un cultivo extensivo tradicional que actualmente está adquiriendo especial relevancia en algunas zonas españolas, como el Valle del Ebro, por mantener una industria de producción de forraje deshidratado con un prometedor mercado orientado a la exportación. La estrecha asociación de AMV con la alfalfa, un cultivo plurianual en el que el virus se transmite por semilla y por diversas especies de pulgones de forma no persistente, condiciona fuertemente su epidemiología, y por tanto, su capacidad de dispersión a otros cultivos susceptibles con importancia económica. En este trabajo se ha realizado un seguimiento de seis parcelas de alfalfa situadas en dos localidades cercanas de la provincia de Zaragoza desde el momento de su implantación y durante cuatro años de cultivo. Durante este periodo se ha caracterizado un total de 90 aislados de AMV, tanto procedentes de los dos lotes de semilla con los que se sembraron las parcelas en cada localidad, como recolectados anualmente en cada una de las parcelas, mediante el análisis de su secuencia de nucleótidos en cuatro regiones genómicas: P1, P2, proteína de movimiento (MP) y proteína de la cápsida (CP) elegidas al azar. Los resultados indican la predominancia a lo largo del cultivo de un número limitado de tipos genéticos, los mismos en ambas localidades, uno de ellos originado mediante procesos de reordenamiento genómico (pseudorrecombinación), lo que coincide con estudios previos realizados por nuestro grupo en alfalfares de distintas zonas geográficas. En una de las localidades se observa además mayor frecuencia de infecciones mixtas y de otros tipos genéticos entre los aislados procedentes de semilla, que no tienden a establecerse a lo largo del cultivo, indicando la existencia de diferencias entre las poblaciones procedentes de semilla y las existentes en cultivo.

***Entoleuca hypovirus 1*, UN NUEVO HYPOVIRUS IDENTIFICADO EN *Entoleuca* sp. PROCEDENTES DE AGUACATE**

Velasco, L.¹, Arjona-Girona, I.M.², Ariza, M. T.¹, Cretazzo, E.¹, Arjona-López, J.M.², y López-Herrera, C.²

¹ IFAPA Centro de Churriana, Cortijo de la Cruz s/n, 29140 Churriana, Málaga.

² Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC, 14080 Córdoba.

Con objeto de identificar elementos de biocontrol de hongos de raíz de aguacate, a partir de aislados del hongo *Entoleuca* sp., asociado a la raíz de aguacate, hemos detectado una serie de elementos dsRNA. Los dsRNA extraídos se han utilizado para su secuenciación masiva en plataforma Illumina y, tras posterior análisis BLASTn y BLASTx, han permitido detectar una posible nueva especie vírica de la familia *Hypoviridae*. La secuencia borrador obtenida a partir de contigs de las secuencias masivas sirvió para, complementada con secuenciación convencional usando cebadores específicos, y determinación de los extremos 5' y 3' mediante el método de ligación de dsRNA con *primer loop*, obtener la secuencia completa de una nueva especie viral. El genoma de este virus, para el que proponemos el nombre de *Entoleuca hypovirus 1* (EnHV-1, aislado E97-14), consta de 14.946 nts. Contiene un extremo 5' no codificante de 945 nts, seguido de dos ORF contiguos de 1.770 y 10.920 nts. La proteína que aparentemente codifica el ORF A no tiene homología con proteínas conocidas ni tampoco ningún dominio reconocible. EL ORF B codifica para una proteína de alto peso molecular, probablemente una poliproteína con funciones de replicasa e incluye un dominio homólogo a helicasas y una región con homología a polimerasas de RNA. A continuación se encuentra un extremo 3' no codificante de 1.279 nts, seguido de un poly-A. Además se ha secuenciado completamente el genoma de otro aislado de EnMV-1 (E112-4) procedente también de *Entoleuca*, lo que ha permitido el diseño de cebadores específicos para detectar el virus. Mediante RT-PCR empleando estos cebadores hemos podido identificar EnMV-1 en otros aislados de *Entoleuca* sp. y también en *Rosellinia necatrix* procedentes de aguacates cultivados en la costa subtropical. Actualmente estamos investigando los efectos de EnMV en la patogenicidad y *Rosellinia* en aguacate.

EVALUACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE PCR E HIBRIDACIÓN MOLECULAR NO RADIATIVA PARA LA DETECCIÓN POLIVALENTE DE *Tomato leaf curl New Delhi virus*, *Tomato yellow leaf curl virus* Y *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus*

Alfaro-Fernández, A.¹; Sánchez-Navarro, J.A.²; Landeira, M.¹; Font, M.I.¹; Hernández-Llopis, D.¹; Pallás, V.²

¹Grupo de Virología. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universitat Politècnica de València. Cno. Vera s/n. 46022 Valencia

²Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV). Universidad Politécnica de Valencia. 46022 Valencia. E-mail: jesanche@ibmcp.upv.es

El begomovirus del rizado del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV) ha sido descrito como el agente fitopatógeno en cultivos de solanáceas (berenjena, patata, pimiento y tomate) y en diferentes cultivos de cucurbitáceas (calabacín, calabaza, melón y sandía). En el presente análisis hemos evaluado las técnicas de PCR e hibridación molecular no radiativa de ácidos nucleicos (AN) (non-radioactive nucleic acids spot hybridization, NASH), con dos protocolos de extracción de AN, para el diagnóstico rutinario de ToLCNDV y su discriminación frente a los virus estrechamente relacionados *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) y *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV). Un protocolo, diseñado para extraer sólo el DNA (E.Z.N.A Plant DNA Miniprep Kit; OMEGA Biotech, Doraville, USA), dio los mejores resultados con la PCR, mientras que el protocolo de extracción con Silica, que permite la extracción de AN totales, fue el mejor para el análisis NASH. Todos los cebadores utilizados permiten la detección específica de ToLCNDV pero sólo algunos de los cebadores generales de begomovirus permiten la detección de los tres virus. Para la detección de ToLCNDV mediante NASH se utilizaron dos ribosondas complementarias a parte del gen de la replicasa y de la proteína de cubierta, respectivamente, dos regiones que presentan porcentajes de identidad de hasta el 74% con los aislados de TYLCV y TYLCSV presentes en la base de datos NCBI. Ambas sondas hibridaron específicamente con extractos de tejido infectado con ToLCNDV, no observándose reacción cruzada con extractos de tejido infectado con TYLCV y TYLCSV. La comparación directa entre la PCR y NASH de 42 muestras de campo utilizando el mismo extracto EZNA, reveló que el 89,6% de los positivos detectados por PCR fueron detectados por NASH. Además, algunas muestras se detectaron solamente por NASH debido a la presencia de inhibidores de la PCR.

SECUENCIACIÓN MASIVA DE PEQUEÑOS RNAS DERIVADOS DE ESPECIES DEL HONGO *BOTRYTIS*

Livia Donaire¹ and María A. Ayllón²

¹ Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CIB-CSIC), 28040, Madrid, Spain

² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas. Universidad Politécnica de Madrid (UPM)-Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Campus de Montegancedo, Pozuelo de Alarcón 28223, Madrid, Spain;

Departamento Biotecnología-Biología Vegetal, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM, 28040 Madrid, Spain

El silenciamiento del RNA es un mecanismo regulatorio ancestral que funciona en células eucariotas. En hongos, se descubrió por primera vez en *Neurospora crassa*, aunque su potencial como mecanismos de defensa frente a micovirus se mostró por primera vez para el hongo *Cryphonectria parasitica*, causante del chancro del castaño, y posteriormente para otras especies de hongos. Hay muy pocas evidencias de su potencial antiviral en especies del hongo fitopatógeno *Botrytis*. Además, poco se sabe acerca de los componentes del silenciamiento del RNA en este hongo, aunque en el análisis de las bases de datos públicas se han identificado dos genes tipo *dicer* en *B. cinerea*, al igual que en la mayoría de los ascomicetes secuenciados hasta ahora. En este trabajo hemos usado secuenciación masiva para estudiar las poblaciones de pequeños RNAs virales (vsRNA) de diferentes micovirus que infectan aislados de campo de dos especies de *Botrytis*. Estos micovirus pertenecen a distintos géneros y especies de virus y tienen diferente tipo de genoma (RNA de doble cadena o de simple cadena con sentido positivo o negativo). En general, los vsRNAs de diferentes micovirus muestran características comunes entre ellos y con los vsRNAs de virus de plantas: la mayoría tienen 21, 20 y 22 nucleótidos de longitud; derivan de ambas polaridades en un ratio similar o son predominantemente de polaridad positiva; tienen preferentemente U en su extremo 5'; y están distribuidos, pero en puntos calientes de acumulación de vsRNAs, a lo largo del genoma viral completo. En este trabajo se muestra por primera vez que la maquinaria de silenciamiento génico actúa contra todos los micovirus analizados de manera similar, independientemente del tipo de virus o de la especie del hongo. MICINN AGL2009-11778.

SESIONES SIMULTÁNEAS II
TEATRO PRINCIPAL (C)
CONTROL

***Potato virus Y* HCPro EXPRESSED FROM A VIRAL VECTOR BINDS *in planta* WITH PREFERENCE TO SMALL RNAs OF 21 AND 22 NT, OF VIRAL SEQUENCE, AND WITH ADENINES AT THEIR 5'-ENDS**

Del Toro, F. J.¹, Donaire, L.¹, Aguilar, E.¹, Chung, B-N.², Tenllado, F.¹, Canto, T.¹

¹ Department of Environmental Biology, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC). Ramiro de Maeztu 9, 28040, Madrid, Spain. fjdt@ Cib.csic.es

² National Institute of Horticultural & Herbal Science. Agricultural Research Center for Climate Change. Jeju, 281 Ayeon-ro, 690-150, Republic of Korea

Potyvirus HCPro is a multifunctional protein that among other functions is a suppressor of RNA silencing. It has been suggested that this function could be related with its ability to bind to small RNAs (sRNAs) which was observed first *in vitro* and recently also *in vivo*. By using next-generation sequencing we have characterized the properties of the short RNAs [of less than 500 nucleotides (nt)] that were bound to *Potato virus Y* HCPro expressed from a PVX-based vector and purified under non-denaturing conditions from infected *Nicotiana benthamiana* plants. We found that the short RNA fraction bound to the HCPro preparation was enriched in sRNAs of 21 and 22 nt in length and of viral sequence (vsRNAs), but not in sRNAs of the same sizes and of plant sequence. Furthermore, within the HCPro-bound vsRNAs there was a bias towards those of 21 and 22 nt containing 5' terminal adenines, absent in the bound sRNAs of plant sequence or in vsRNAs of other sizes. This enrichment in these specific sRNA sizes and their particular 5'-end nt preference suggests that HCPro could be specifically targeting vsRNAs that might otherwise become loaded into Argonaute 2, a host protein with an important role in the silencing response of the host to Potyviruses.

DIFFERENTIAL TRADE-OFFS CONFERRED BY VIRUS INFECTIONS IN PLANTS GROWN UNDER WATER DEFICIT

Aguilar, E.¹, Cutrona, C.¹, del Toro, F.J.¹, Vallarino, J.G.², Osorio, S.², Pérez-Bueno, M.L.³, Barón, M.³, Chung, B.N.⁴, Canto, T.¹, Tenllado, F.¹

¹*Departamento de Biología Medioambiental, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC), Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid, Spain. tenllado@cib.csic.es*

²*Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, Spain*

³*Departamento de Bioquímica, Biología Celular y Molecular de Plantas, Estación Experimental del Zaidín, 18008 Granada, Spain*

⁴*National Institute of Horticultural & Herbal Science, Agricultural Research Center for Climate Change, Jeju Island, Republic of Korea*

Crop production strongly depends on limits imposed by biotic and abiotic stresses, and these factors rarely act independently. Some of these stresses often induce in the plant common and stress-specific defensive responses. In this regard, metabolic changes and signaling pathways triggered in the plant by viral infections could ameliorate detrimental effects caused by drought stress. The aim of this work was to analyze the effect of different viral infections in tolerance to drought and biological efficacy (fitness) of the host grown under water deficit.

Arabidopsis thaliana and *Nicotiana benthamiana* plants were infected with PVX (Potato virus X), PPV (Plum Pox virus), a mixture of PVX+PPV, or a PPV chimeric virus expressing the P25 protein from PVX (PPV-P25). Both infected and mock-inoculated plants were subjected to different degrees of drought, and parameters associated with water-deficit stress (water content, root architecture, transpiration rate) and fitness (plants producing seeds, seed weight, germination rate) were recorded. Infected plants showed higher water content compared to control plants under drought stress. A positive relationship between tolerance to drought and the pathogenicity protein P25 was also observed. Furthermore, prolonged drought led to enhanced fitness (two-fold) of plants infected with PPV and PPV+PVX compared to mock-inoculated plants, as shown by the number of plants producing seeds. However, infection by PPV-P25 caused a detrimental effect on seed production even under water stress. Hormonal and metabolic analyses of mock-inoculated and virus-infected plants showed a predominant contribution of water balance to the metabolic status of the plant, followed by the viral infection. The metabolic profile of plants infected with PPV-P25 differed from the other virus-infected and mock-inoculated plants, suggesting a differential metabolic status conferred by this infection prior to water deprivation. These results indicate that some viral infections conferred both, drought tolerance and enhanced fitness to the host, whereas infection by others imposed a severe penalty to fitness, which could not be compensated by a better tolerance to drought.

***cmv1* ENCODES A VACUOLAR PROTEIN SORTING 41 INVOLVED IN VESICLE TRAFFICKING TO THE VACUOLE AND DETERMINES CUCUMBER MOSAIC VIRUS TRANSPORT TO THE PHLOEM.**

Laura Pascual¹, Ana Giner¹, Pablo Rios¹, Gabor Gyetvai¹, Michael Bourgeois¹, Belén Picó², Jordi Garcia-Mas¹, Ana Montserrat Martín-Hernández¹

¹ IRTA, Centre for Research in Agricultural Genomics CSIC-IRTA-UAB-UB (CRAG), C/ Vall de Moronta, Edifici CRAG, Campus UAB, Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), 08193 (Barcelona), Spain.

² COMAV, Institute for the Conservation and Breeding of Agricultural Biodiversity, Universitat Politècnica de València (UPV), Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain.

Infections by *Cucumber mosaic virus* (CMV), the type member of the Cucumovirus genus, can cause complete harvest loss in more than 1000 plant species, including important crop plants. CMV is classified in two subgroups (I and II) differing in 70% nucleotide sequence. The search for naturally resistant cultivars is a successful control measurement against viral infections. In the melon accession PI 161375, cultivar 'Songwhan Charmi' (SC), the resistance to CMV is mediated by a complex mixture of qualitative and quantitative genes. One single gene, *cmv1*, confers by itself total recessive resistance to strains of subgroup II by preventing viral transport from the bundle sheath cells, which surround the vein, to the phloem. To confer resistance to the subgroup I strains, at least two other QTLs must act together and cooperatively with *cmv1*.

Here, we report the fine mapping and cloning of *cmv1*, encoding a Vacuolar Protein Sorting 41 (*CmVPS41*), a gene conserved among plants, animals and yeast, which is required for post Golgi vesicle trafficking towards the vacuole.

We have screened a recombinant population of more than 4000 F2 plants and narrowed the region carrying *cmv1* to 132 Kb including the *CmVPS41* gene. We have validated *CmVPS41* as *cmv1* by generating susceptible SC transgenic lines, expressing the *CmVPS41* allele from a susceptible genotype and by analyzing TILLING mutants with increased resistance to CMV. Besides, we analyzed a collection of genotypes and identified, by association, the mutation responsible for the resistance to CMV.

CmVPS41 cellular function suggests that CMV might use part of *CmVPS41* activity in the bundle sheath cell for its own transport towards the phloem cells to develop a systemic infection.

CARACTERIZACIÓN DE LA TOLERANCIA AL *Tomato leaf curl New Delhi virus* EN MELÓN

Sáez, C.¹, Ferriol, M.², Martínez, C.¹, Esteras, C.¹, López C.¹, Picó, B.¹

¹ Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV-UPV), Universitat Politècnica de València, Valencia. E-mails: clopez@upvnet.upv.es
mpicosi@btc.upv.es

² Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Valencia.

El virus de la hoja rizada del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV) es un geminivirus identificado por primera vez en España en 2013, causando graves pérdidas en el cultivo de calabacín (*Cucurbita pepo*) del sudeste español. La enfermedad se ha ido extendiendo y, actualmente afecta también al melón (*Cucumis melo*) en zonas de cultivo intensivo y extensivo, como Castilla la Mancha, donde afectó en la última campaña al 80% del melón tardío de tipo Piel de Sapo.

En un trabajo anterior se cribó una colección de entradas de *C. melo* (incluyendo accesiones de las subespecies *melo* y *agrestis*) y se identificó tolerancia en cinco accesiones indias de la ssp. *agrestis* de melón; tres de la variedad cultivada *momordica* y dos de tipo silvestre (López et al., 2015, *Euphytica* 204: 679–691). Algunas de estas entradas fueron totalmente asintomáticas, mientras que otras presentaron una aparición tardía de los síntomas, observándose sólo un ligero fruncido de la hoja. Para estudiar el control genético de la tolerancia se realizaron cruzamientos entre las accesiones tolerantes de melón y la variedad susceptible comercial Piñonet Piel de Sapo (PS) (*Cucumis melo* ssp. *melo* variedad *inodorus*). La mejor respuesta tras la inoculación mecánica con el virus se observó en los híbridos F₁ entre el tipo silvestre WM-7 y PS. Estos híbridos se autofecundaron y retrocruzaron para obtener las poblaciones F₂ y BC₁ (retrocruce hacia el parental susceptible), de las que se inocularon 158 y 81 plantas, respectivamente. Treinta días después de la inoculación se evaluó en las plantas la sintomatología y el contenido viral mediante PCR cuantitativa, obteniéndose un ratio de plantas asintomáticas:sintomáticas de 3:1 en la F₂ y de 1:1 en la BC₁. Esta segregación se ajusta a un control monogénico dominante. Actualmente, se está trabajando en la obtención de marcadores para identificar el gen o genes involucrados en la tolerancia y para facilitar la introgresión de la misma en variedades comerciales de melón.

Agradecimientos al INIA y a la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto E_RTAE2013-00020-C04-03.

RESPUESTAS SISTÉMICAS TEMPRANAS DURANTE LA INTERACCIÓN TRIPARTITA *Verticillium dahliae* -OLIVO-*Pseudomonas fluorescens* PICF7

Carmen Gómez-Lama Cabanás¹, Rafael Sesmero¹, Antonio Valverde-Corredor¹, F. Javier López-Escudero² y Jesús Mercado-Blanco¹

¹ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Campus 'Alameda del Obispo' s/n, 14080 Córdoba, España, E-mail: cgomezlama@ias.csic.es

² Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Apdo. 3048, 14080, Córdoba, España

Pseudomonas fluorescens PICF7 es una bacteria indígena de raíces de olivo, endófito y con capacidad de biocontrol efectivo frente a la Verticilosis del olivo (*Verticillium dahliae* Kleb.). Estudios previos han demostrado que la colonización de raíces de olivo por PICF7 o por *V. dahliae* desencadena cambios transcriptómicos diferenciales en tejidos aéreos, muchos de ellos relacionados con respuestas defensivas frente a diversos tipos de estreses (abióticos, y algunos comunes en ambas interacciones). Se desarrolló un sistema 'split-root' al objeto de examinar el patrón de expresión (intervalo de 14 días) en tejidos aéreos de una selección de genes cuando ambos microorganismos se encontraban espacialmente separados (inoculados en distintos compartimentos del sistema 'split-root') y secuencialmente aplicados (primero PICF7 y una semana después el patógeno). El objetivo era determinar si PICF7 inducía respuestas sistémicas efectivas en el huésped previas al ataque del patógeno. Genes relacionados con defensa identificados en las interacciones PICF7- y/o *V. dahliae*-raíces de olivo (*CO-MT*, *PAL*, *ACO*, *CAT*, *WRKY*, *14-3-3* y *BRUI*) se seleccionaron para evaluar su patrón de expresión en tejidos aéreos (RT-qPCR) cuando: a) PICF7 estaba sólo en un compartimento (días 1-14); b) el patógeno se añadía al compartimento adyacente (días 7-14); y c) el patógeno estaba sólo (días 7-14). Se observaron respuestas diferenciales dependiendo del gen estudiado. Así, para el gen *14-3-3*, el patrón de expresión no varió independientemente del microorganismo presente. Algunos mostraron patrones de expresión opuestos dependiendo del organismo presente en la raíz (p.ej. el factor de transcripción *WRKY*). Finalmente, otros sólo respondieron a la presencia del patógeno (p.ej. *BRUI*, proteína regulada por brasinosteroides, y *CO-MT*, involucrado en biosíntesis de fenilpropanoides). Experimentos en curso están evaluando si estos patrones de expresión son similares cuando PICF7 y el patógeno no están separados espacialmente. Financiado por P12-AGR-667 (Junta de Andalucía, España), co-financiado con fondos FEDER de la EU.

DIFERENCIAS EN LAS RESPUESTAS DEFENSIVAS LOCAL Y SISTÉMICA DE ACEBUCHES RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES A *Verticillium dahliae* D Y PAPEL DE *Trichoderma harzianum* EN SU SEÑALIZACIÓN

I. Carrero-Carrón^{1,2}, M. B. Rubio¹, E. Monte¹, R. M. Jiménez-Díaz², R. Hermosa¹

¹*Departamento de Microbiología y Genética. Instituto Centro Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE). Universidad de Salamanca. E-mail: rhp@usal.es*

²*Departamento de Agronomía. ETSIAM. Universidad de Córdoba. Instituto de Agricultura Sostenible. CSIC.*

La Verticilosis del Olivo (VO) causada por *Verticillium dahliae* es una de las enfermedades más importantes del cultivo en todas las zonas olivareras del mundo, y en España constituye la principal amenaza sanitaria del olivar andaluz. A esto último contribuye la prevalencia de un patotipo defoliante (D) altamente virulento sobre las variedades de olivo de mayor interés comercial, que se ha extendido en toda Andalucía. El control de la VO requiere la aplicación de estrategias de lucha integrada, en las que son clave el uso de material vegetal resistente a *V. dahliae* D y la protección del material de plantación sano mediante agentes de biocontrol (ABCs). A dicha protección pueden contribuir muchas *Trichoderma* spp. efectivas como ABC de enfermedades de plantas causadas por hongos fitopatógenos de suelo, porque su capacidad antagonista comprende varios mecanismos de acción incluyendo antibiosis, micoparasitismo, inducción de defensas contra estreses bióticos y abióticos, y la promoción del crecimiento vegetal. En este trabajo hemos analizado la capacidad de *T. harzianum* T34 para inducir respuestas defensivas frente a la infección por *V. dahliae* D V-138I, en los clones Ac-4 (resistente) y Ac-15 (susceptible) al patotipo D. Plantones de ‘Ac-4’ y ‘Ac-15’ se inocularon individual o conjuntamente con los aislados T34 y V-138I, se incubaron en condiciones óptimas para la infección, y sus raíces y hojas se muestrearon en un curso temporal para analizar mediante qPCR los patrones de expresión de siete genes asociados con respuestas de defensa en planta. Los perfiles de expresión génica observados indican que ambos hongos difieren en la señalización de respuestas defensivas en los dos clones de acebuche y que, a su vez, el genotipo de la planta influye en la señalización.

Financiado por el proyecto P10-AGR 6082, CEICE, Junta de Andalucía y fondos FEDER, UE.

SOBRE LA DIVERSIDAD DE PROTEÍNAS ANTIFÚNGICAS EN HONGOS FILAMENTOSOS: EL EJEMPLO DEL PATÓGENO DE FRUTOS CÍTRICOS *Penicillium digitatum*.

Garrigues, S., Gandía, M., Manzanares, P., Marcos, J.F.

Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Avenida Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia, España. sgarrigues@iata.csic.es

Las proteínas antifúngicas (AFPs) son pequeñas proteínas catiónicas del tipo defensina, ricas en cisteínas, extremadamente estables y producidas en grandes cantidades por determinados hongos. Se ha propuesto su uso para el desarrollo de nuevas biomoléculas antifúngicas. Nuestro grupo ha desvelado la diversidad y presencia de distintas AFPs en los genomas de hongos filamentosos. Los estudios filogenéticos indican la división en tres clases de AFPs: A, B y C. Las AFPs más estudiadas pertenecen a la clase A. *Penicillium digitatum* es el causante de la podredumbre verde en los frutos cítricos. El estudio de su genoma ha identificado un único gen *afp* perteneciente a la clase B. Para determinar el papel biológico del gen *afpB* en *P. digitatum* se generaron mutantes de delección ($\Delta afpB$) y de expresión constitutiva ($afpB^C$). Los resultados revelaron que *afpB* no es necesario para completar el ciclo biológico del hongo, mientras que su expresión constitutiva reduce notablemente su crecimiento y virulencia de acuerdo con un hipotético efecto antifúngico. Sin embargo, la proteína AfpB no ha sido detectada en ninguna de las cepas ni condiciones de cultivo ensayadas. Se diseñaron y caracterizaron una serie de péptidos sintéticos derivados de la secuencia de AfpB para identificar posibles motivos antifúngicos. PAF112 y PAF118, péptidos catiónicos cíclicos derivados de zonas expuestas de AfpB, presentaron actividad antifúngica moderada y específica, mientras que PAF109, derivado del motivo □ conservado en proteínas tipo defensina, no presentó actividad. Estos péptidos fueron testados frente a diferentes mutantes de *P. digitatum*. El mutante $\Delta pmt2$ presentó mayor tolerancia, indicando que la glicosilación de proteínas estaría involucrada en los mecanismos de sensibilidad de *P. digitatum* a estos péptidos. Los experimentos en curso intentan determinar y corregir las causas por las que AfpB no ha podido ser detectada a pesar de la elevada expresión de su gen *afpB*.

VANILLYLNONANOATE INDUCES PHYSIOLOGICAL CHANGES IN PEPPER THAT CAUSE A SYSTEMIC RESISTANCE AGAINST *Botrytis cinerea*

García, T.¹, Veloso, J.¹, Díaz, J.¹

¹ Grupo de Investigación de Fisiología e Aplicacións das Plantas (FISAPLANT), Departamento de Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, Campus de A Coruña, 15071 A Coruña, Spain. josefv@udc.es

Botrytis cinerea Pers.:Fr. is able to infect more than 200 plants and is considered a model of necrotroph pathogens. Vanillylnonanoate (VNT), a synthetic analogue of capsate, is able to induce systemic resistance in pepper against *B. cinerea*, reducing significantly the symptoms. The aim of this study is to reveal which defensive mechanisms are involved in the process. qPCR quantification of the pathogen demonstrated that leaves from VNT-treated plants were ca. 60% less colonized by *B. cinerea*. Spectrophotometrical data and DAB-staining demonstrated that VNT plants showed an oxidative burst (H₂O₂) after *B. cinerea* inoculation, but the control did not. Treatment with the H₂O₂ scavenger, DTT, abolished the resistance induced by VNT. *CaACO* is a gene involved in ethylene biosynthesis, and its expression increased in leaves from VNT-treated plants. Moreover, MCP, an inhibitor of ethylene perception, abolished the resistance induced by VNT. These results point to a VNT-signalling regulated by an oxidative burst and ethylene. Regarding the, physical and chemical barriers induced by VNT, lignin accumulation was enhanced in VNT plants, both before and after *B. cinerea* inoculation, whereas phenolics decreased only after challenge inoculation. Several pepper genes related to plant resistance as *CaBPRI* and *CaBGLU* (both are PR proteins) increased their expression in the leaves from VNT-treated plants. The expression of other pepper genes will be also shown. All these physiological changes are the reason for the induced resistance observed.

Research supported by Xunta de Galicia (Grant 10MRU103009PR)

SESIONES SIMULTÁNEAS II
DIPUTACIÓN PROVINCIAL (D)
EPIDEMIOLOGÍA

EXPANSIÓN CLONAL Y MIGRACIÓN DE UN LINAJE DEFOLIANTE Y ALTAMENTE VIRULENTO DE *Verticillium dahliae*

Jiménez Díaz, R.M.¹, Jiménez Gasco, M.M.², Olivares García, C.¹, Milgroom, M.G.³

¹ ETSIAM, Universidad de Córdoba, e Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), CSIC; Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario, ceiA3; Alameda del Obispo s/n, 14004 Córdoba, España. agljidir@uco.es.

² Department of Plant Pathology and Environmental Microbiology, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA.

³ Plant Pathology and Plant-Microbe Biology Section, School of Integrative Plant Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA.

Verticillium dahliae se caracteriza por su patogenicidad inespecífica y virulencia adaptativa, fácil dispersión en semillas y material de plantación infectados y una estructura clonal con varios linajes de distribución cuasi-mundial en cultivos agrícolas. Los aislados del linaje 1A son altamente virulentos y defoliantes (D) en algodón, okra y olivo (designado 1A/D), mientras que los de otros linajes causan marchitez pero no defoliación (ND). Mediante genómica de poblaciones hemos contrastado la hipótesis derivada de registros históricos de que el linaje 1A/D se podría haber originado en el sudoeste de los EE UU y dispersado subsecuentemente a la Cuenca Mediterránea. El genotipado por secuenciación de 91 aislados de 1A/D y cinco del linaje 1B/ND altamente relacionado con él identificó 187 SNPs, cuyo análisis ‘neighbor-joining’ y de máxima verosimilitud mostró una clara divergencia entre haplotipos de ambos. Esta divergencia se confirmó mediante análisis de coalescencia basado en 77 SNPs seleccionados, de los que 27 eran diferentes entre los dos linajes. El análisis reveló ausencia de recombinación dentro, o entre, los linajes. Análisis filogenéticos y genealógicos revelaron cinco subclados distintivos de aislados de 1A/D estrechamente correlacionados con orígenes geográficos en la cuenca Mediterránea, consistente con la hipótesis de que el patotipo D fue introducido al menos cinco veces en eventos fundadores independientes desde poblaciones origen relativamente diversas. El haplotipo ancestral inferido pertenece a dos aislados muestreados antes de 1983 en el sudoeste de los EE UU, que es consistente con registros históricos de que el linaje 1A/D se originó en este país. Los cinco subclados coalescen con el haplotipo ancestral al mismo tiempo, que es consistente con la hipótesis de una rápida expansión clonal en la población original en el curso de la emergencia del linaje 1A/D como un patógeno altamente virulento en algodón en los EE UU.

Financiado por los proyectos P10-AGR 6082, CEICE, Junta de Andalucía, y AGL2011-24935, MEC, cofinanciados con fondos FEDER, UE.

FACTORES CLIMÁTICOS Y GEOGRÁFICOS ASOCIADOS CON LA MANCHA NEGRA DE LOS CÍTRICOS CAUSADA POR *Phyllosticta citricarpa*. UNA APROXIMACIÓN BAYESIANA CON INLA

Martínez-Minaya, J.¹, López-Quílez A.², Conesa D.², Vicent A.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada 46113, Valencia, Spain. avicent@ivia.es

² Departament d'Estadística i Investigació Operativa, Universitat de València. Burjassot 46100, Valencia, Spain.

La mancha negra o 'black spot', causada por el hongo *Phyllosticta citricarpa*, es la principal enfermedad fúngica de los cítricos a nivel mundial. Bajo condiciones climáticas adecuadas, *P. citricarpa* induce la aparición de lesiones necróticas en la corteza de los frutos y su caída prematura. Las regiones cítricas del Mediterráneo están todavía exentas de la enfermedad, por lo que la Directiva 2000/29/CE establece unas medidas fitosanitarias para evitar la entrada de *P. citricarpa*. Algunos países afectados por la mancha negra han cuestionado la necesidad de estas medidas, argumentando que el clima del Mediterráneo no es favorable para el desarrollo de la enfermedad. En este estudio se analizó la contribución de los factores climáticos y espaciales en la distribución geográfica de *P. citricarpa*. Se eligió Sudáfrica como zona de estudio, debido a su gran diversidad climática y a la disponibilidad de datos de distribución de la enfermedad. Se prepararon mapas georeferenciados de distribución de la enfermedad en 1950 y 2014 y se utilizaron promedios climáticos de la base de datos WorldClim. La componente espacial se incorporó en los modelos mediante un término no lineal de dispersión, denominado kernel de Cauchy, que depende de las distancias euclídeas a las localizaciones afectadas más cercanas. La presencia/ausencia de la enfermedad en 1950 y 2014 se relacionó con las covariables climáticas y la componente espacial mediante modelos lineales generalizados. Para la estimación de los parámetros y las predicciones se utilizó inferencia bayesiana aplicando el método anidado de integración de Laplace (INLA), mucho más eficiente computacionalmente que las simulaciones con MCMC. La componente espacial resultó relevante tanto en 1950 como 2014, mejorando notablemente la calidad de ajuste de los modelos respecto a aquellos que incorporaban únicamente covariables climáticas. Estos resultados indican que los modelos basados sólo en factores climáticos pueden subestimar la distribución geográfica potencial de *P. citricarpa*.

ASOCIACIÓN ENTRE *Pityophthorus Pubescens* Y *Fusarium Circinatum* EN PLANTACIONES AFECTADAS POR LA ENFERMEDAD DEL CHANCRO RESINOSO EN EL NORTE DE ESPAÑA

Bezós D., Martínez –Álvarez P., Díez J.J., Fernández M.

Instituto Universitario de Gestión Forestal Sostenible. Avda. Madrid, 44, 34004 Palencia.

Resumen

Fusarium circinatum es el hongo causante de la enfermedad del chancro resinoso de los pinos y supone actualmente una amenaza para las plantaciones de *Pinus radiata* debido a la alta susceptibilidad de esta especie. El principal síntoma de esta enfermedad es la presencia de chancros resinosos en el tronco que pueden causar la muerte del árbol. Varias especies de escolítidos se han descrito como vectores de este patógeno, como es el caso de las especies del género *Pityophthorus* (Coleptera; Scolotinae) en California. *Pityophthorus pubescens* es una plaga secundaria que ataca a árboles debilitados o ramas rotas de árboles sanos. El objetivo de este trabajo es estudiar la asociación entre *P. pubescens* y *F. circinatum* en plantaciones afectadas por la enfermedad del chancro resinoso en el norte de España. Se establecieron tres objetivos específicos: i) estudiar la asociación forética entre *P. pubescens* y *F. circinatum*, ii) analizar la presencia de *F. circinatum* en ramillas atacadas por *P. pubescens*, iii) evaluar los daños causados por la enfermedad del chancro resinoso en árboles cebados con (E)-pityol. Para ello, se recogieron insectos mediante embudos cebados con (E)-pityol y ramillas atacadas por el insecto en parcelas afectadas por la enfermedad. Tanto los insectos como el material vegetal recogidos se cultivaron en medio patata dextrosa agar con el objetivo de aislar *F. circinatum*. Además se llevó a cabo un experimento en campo, en el cual se cebaron árboles afectados por la enfermedad con (E)-pityol y se evaluaron los daños causados por la misma en cuatro momentos diferentes a lo largo de un año. Se capturaron un total de 263 especímenes en los embudos durante los meses de junio a septiembre de 2010, 2011, 2012 y 2013. Además, se recogieron 215 especímenes de un total de 424 galerías en el interior de las ramillas en 2012 y 2013. El patógeno fue aislado del 1 % y 2 % de los insectos durante los años 2010 y 2012, respectivamente. En relación con las ramillas recogidas, *F. circinatum* se aisló en tres galerías aunque no se obtuvo ningún aislado procedente directamente de los insectos. Los resultados del experimento con árboles cebados mostraron una mayor influencia del atrayente sobre los síntomas de la copa que sobre los del tronco. Este trabajo muestra una asociación leve entre *P. pubescens* y *F. circinatum* en nuestra área de estudio.

LA DIVERSIDAD MOLECULAR DE ENDOSIMBIOTES BACTERIANOS ASOCIADOS CON EL GÉNERO *XIPHINEMA* (NEMATODA: LONGIDORIDAE) REVELA UNA ELEVADA CONGRUENCIA FILOGENÉTICA CON SU HUÉSPED

Palomares-Rius, J.E., Archidona-Yuste, A., Cantalapiedra-Navarrete, C., Prieto, P., Castillo, P.

Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Avenida Menéndez Pidal s/n, 14004 Córdoba. palomaresje@ias.csic.es

Se han detectado endosimbiontes bacterianos en algunos grupos de nematodos fitoparásitos y parecen tener un papel fundamental en la adaptación al medio y supervivencia de sus especies huésped. En este trabajo se ha determinado la presencia y la diversidad molecular de estos endosimbiontes dentro de los nematodos ectoparásitos migratorios de la familia Longidoridae (*viz Xiphinema, Longidorus y Paralongidorus*). Se han testado 124 poblaciones de nematodos (previamente identificados morfológicamente y molecularmente) frente a la presencia de endosimbiontes bacterianos usando el gen ribosómico 16S. Solo se detectaron endosimbiontes bacterianos en especies de nematodos pertenecientes al género *Xiphinema* y específicamente dentro del grupo *Xiphinema americanum*. En este estudio se ha secuenciado el gen 16S de 57 endosimbiontes bacterianos. Uno de los grupos de secuencias perteneció al género “*Candidatus Xiphinematobacter*” (19 secuencias asociadas con 7 especies de nematodos, incluyendo 2 especies descritas y 3 especies de endosimbiontes no descritos anteriormente). El segundo grupo de endosimbiontes (38 secuencias asociadas con 5 especies de nematodos y 5 especies de endosimbiontes no descritos anteriormente) estuvo relacionado con la familia Burkholderiaceae que incluye también endosimbiontes fúngicos y de plantas. El grupo de endosimbiontes pertenecientes a la familia Burkholderiaceae son citados por primera vez en el Phylum Nematoda. Nuestros estudios indican una elevada relación simbiótica entre las especies de nematodos huéspedes y estos endosimbiontes. Estos resultados fueron corroborados con una elevada congruencia filogenética entre nematodo huésped-endosimbionte en una larga co-evolución entre ellos. Asimismo, también se estudiaron las variaciones en el genoma entre dos endosimbiontes asociados con las especies de nematodos transmisores de virus *Xiphinema americanum* y *Xiphinema rivesi*.

Investigación financiada por P12-AGR-1486-CICE, ArimNET_ERANET-219262-INIA, y fondos FEDER (EU).

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DEL AGENTE CAUSAL DE LA NECROSIS BACTERIANA DE LA DIPLADENIA

Caballo-Ponce, E¹; Cerezo, M²; Ramos, C¹

¹ Área de Genética, Facultad de Ciencias, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”, Universidad de Málaga-CSIC (IHSM-UMA-CSIC), Málaga, España. crr@uma.es

² Área de Fisiología Vegetal, Departamento CAMN, Grupo de Integración Metabólica y Señalización Celular. Universidad Jaime I. Castellón de la Plana, España

La dipladenia (*Mandevilla* spp.) es una planta ornamental con un amplio mercado en Europa, siendo España e Italia los principales productores. En varios países de Europa (Francia, Alemania, Eslovenia y España) y en Estados Unidos, se ha descrito una enfermedad en dipladenias cuyos síntomas característicos son la aparición de manchas necróticas rodeadas de un halo clorótico en las hojas y el desarrollo de tumores en los tallos. Hemos realizado un análisis filogenético de una colección de aislados de dipladenia procedentes de todos los países en los que se ha descrito esta enfermedad. La filogenia obtenida en base a la secuencia de 4 genes esenciales confirmó que todos los aislados de dipladenia (Psd) pertenecen a la especie *Pseudomonas savastanoi*. Sin embargo, los Psd presentan un perfil LOPAT (Levano, Oxidasa, Pectinólisis, Arginina dihidrolasa, respuesta hipersensible en Tabaco) diferente al de la mayoría de las cepas de *P. savastanoi* y *Pseudomonas syringae*, ya que no inducen la respuesta de hipersensibilidad en *Nicotiana tabacum*. Además, a diferencia de los aislados de olivo de *P. savastanoi*, el perfil plasmídico de los Psd es muy similar en todas las cepas. Por otro lado, los Psd presentan en su genoma homólogos a los genes implicados en la biosíntesis del ácido indol-3-acético (IAA) en otras cepas de *P. savastanoi*. Esta hormona, juega un papel crucial en la patogenicidad de aislados de olivo y adelfa. Se ha determinado el número de copias y la localización (plasmídica y/o cromosómica) de los genes *iaaM* (implicado en la síntesis del IAA) e *iaaL* (implicado en la conjugación del IAA a lisina). También hemos cuantificado la producción de IAA en los Psd, obteniéndose la mayor producción de la hormona en medio suplementado con triptófano. Además, hemos demostrado que la curación del plásmido que contiene una copia del gen *iaaM* en uno de los Psd tiene como consecuencia una disminución de la producción de la hormona así como de la virulencia y de la supervivencia de la bacteria en la planta. Ensayos de patogenicidad de varios Psd en los huéspedes previamente descritos de *P. savastanoi* (olivo, adelfa, fresno y retama), sugieren que las cepas de *P. savastanoi* aisladas de dipladenia podrían constituir un nuevo patovar. Actualmente estamos analizando la infección sistémica de dipladenia por este patógeno, utilizando para ello un derivado marcado con la proteína verde fluorescente.

PRIMERA DETECCIÓN DE *Lonsdalea quercina* subsp. *populi* EN CHOPO EN ESPAÑA

Berruete, I.M.¹, Collados, R.², Cambra, M.A.², Palazón, M.L.², Ibarra, N.³, Cañada, F.⁴, Cubero, J.⁵, Monterde A.⁶, López, M.M.⁶, Palacio-Bielsa, A.¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España. apalaciob@aragon.es

² Centro de Sanidad y Certificación Vegetal (CSCV); ³ Unidad de Salud de los Bosques (USB); Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España.

⁴ Servicio Provincial Huesca. Dpto. Desarrollo Rural y Sostenibilidad, Plaza Cervantes 1, 22071 Huesca, España.

⁵ Laboratorio de Bacteriología. Dpto. de Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Ctra. de la Coruña km 7,5, 28040 Madrid.

⁶ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Ctra. de Moncada a Náquera km 4,5, 46113 Moncada, Valencia.

Lonsdalea quercina (ex. *Brenneria quercina*) subsp. *populi* ha sido recientemente descrita como una nueva subespecie bacteriana que afecta a chopo en Hungría y China. Dicha bacteria induce la formación de chancros en el tronco acompañados de abundantes exudados espumosos de color blanco, pudiendo llegar incluso a producir la muerte de árboles con infecciones severas.

En España, durante los veranos de 2014 y 2015, se identificaron ocho choperas del híbrido *Populus x euramericana* (clones 'I-214' y 'MC'), que presentaban síntomas característicos de la enfermedad en tres localidades de Aragón. De todas las muestras analizadas se consiguió de forma consistente aislar bacterias cuyas características bioquímicas coincidieron con las esperadas para la cepa tipo de la subespecie antes mencionada. Además, mediante amplificación por PCR con iniciadores específicos para *L. quercina*, se obtuvieron fragmentos del tamaño esperado. El análisis de secuencias del ADN_r 16S reveló una similitud del 99,8-100% con las secuencias disponibles de *L. quercina* subsp. *populi*. Finalmente, el poder patógeno de los aislados se verificó mediante inoculación en porciones de tronco de *Populus x euramericana* clon 'I-214'.

Este trabajo supone la primera cita de la nueva subespecie *L. quercina* subsp. *populi* en España. La enfermedad que produce podría tener un impacto económico importante en cultivares sensibles de chopo, siendo necesario evaluar las pérdidas que causa y realizar nuevas prospecciones para determinar su distribución en el país.

NUEVO HUÉSPED DE *Erwinia amylovora* EN PLANTAS SILVESTRES: PRIMERA DETECCIÓN EN *Pyrus bourgaeana* (PIRUÉTANO)

Marco-Noales, E.¹, Peñalver, J.¹, Navarro, I.¹, Gorris, M.T.¹, Morente, C.¹, Balguerías, C.², Ramírez, J.A.², Recio, C.², Ruiz de la Hermosa, T.², Sancho, R.³, Aedo, C.⁴, López, M.M.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera CV-315, Km 10,7, 46113 - Moncada (Valencia). emarco@ivia.es

² Consejería de Agricultura Castilla-La Mancha, C/ Pintor Matías Moreno, 4 - 45071 Toledo.

³ Laboratorio Agroalimentario y Ambiental Castilla-La Mancha, C/ Pintor Matías Moreno, 4 - 45071 Toledo.

⁴ Real Jardín Botánico de Madrid, CSIC, Plaza de Murillo, 2, 28014 Madrid.

El piruétano, peral silvestre o galapero (*Pyrus bourgaeana*, Decne) es un árbol de pequeño tamaño, de copa amplia e irregular y frecuentes espinas, que tiene gran interés ecológico porque produce hojas sabrosas y abundantes frutos carnosos en verano, lo que lo hace atractivo para diversas especies de mamíferos y aves cuando otros recursos tróficos escasean. En la Península Ibérica se distribuye, disperso en enclaves concretos, en el sur de Portugal, el oeste de Castilla-León, Madrid, Extremadura, Andalucía occidental y Castilla-La Mancha, siendo menos frecuente hacia el este. Entre 2010 y 2012 se observaron síntomas típicos de fuego bacteriano en poblaciones de piruétano de diferentes zonas de Castilla-La Mancha próximas al Parque Nacional de Cabañeros, en las provincias de Ciudad Real y Toledo, aislándose *Erwinia amylovora* en cultivo puro en un 70,5% de las muestras analizadas. Los aislados de *E. amylovora* presentaron gran homogeneidad fenotípica, con un perfil bioquímico y un patrón de utilización de fuentes de carbono característicos de la especie, mostrando solo algunas discrepancias entre cepas en la asimilación de determinados azúcares. Genotípicamente, hasta el momento sólo se han encontrado algunas diferencias en el contenido plasmídico, pues todos los aislados poseen los plásmidos pEA29 y pEI70, excepto 4 de ellos que carecen del segundo. El poder patógeno de los aislados se ha confirmado en peras y/o manzanas inmaduras y brotes de peral y de piruétano, reproduciéndose síntomas característicos de fuego bacteriano. Ésta es la primera información de *P. bourgaeana* como huésped de *E. amylovora*. Puesto que el piruétano es una especie arbórea importante, relevante para la fauna, de interés paisajístico, y ya incluida en catálogos de especies amenazadas, sus poblaciones en Castilla-La Mancha deberían protegerse frente al fuego bacteriano para asegurar su supervivencia a medio y largo plazo.

BLUE AND GREEN FLUORESCENCE AND THERMAL IMAGING IN THE EARLY DETECTION OF SUNFLOWER BROOMRAPE (*Orobanche cumana* Wallr.)

Ortiz-Bustos, C.M.¹, Pérez-Bueno, M.L.², Barón, M.² and L. Molinero-Ruiz¹.

¹ Dept. Crop Protection, Institute for Sustainable Agriculture, CSIC. Alameda del Obispo s/n, 14004 Córdoba, Spain. leire.molinero@csic.es

² Estación Experimental del Zaidín, CSIC. Profesor Albareda 1, 18008 Granada, Spain.

The holoparasitic plant *Orobanche cumana* Wallr. depends entirely on the sunflower to obtain its supply of water, mineral nutrients and photoassimilates. The infection becomes evident by emergence of broomrape stems around flowering time of sunflower. However, the metabolism and water flow of the host plant are modified as a result of the parasite attack earlier in the infection process. Imaging of blue-green fluorescence (BGF) induced by UV light is a sensitive tool that provides information about changes in the content of plant secondary metabolites as a consequence, among others, of biotic stresses. On the other hand, infrared thermography can show alterations on leaf temperature upon infection by plant pathogens. The objectives of this work were to analyse the effect of the infection on sunflower plants by BGF and thermal imaging and to evaluate the use of these techniques in the early detection of the infection, prior to the broomrape emergence. Germinated seeds of sunflower susceptible to *O. cumana* were inoculated by transplant to soil previously infested with parasite seeds. The controls were sown in non-infested soil. Pots were grown in a glasshouse at 12–22°C for 5 weeks in a completely randomized design. Blue-green fluorescence (BGF) images were acquired sequentially in developed leaf pairs along the initial four vegetative stages of all the plants. Infrared and blue and green fluorescence (F440, F520, respectively, and their ratio F440/F520) images of fully developed leaf pairs and unshaded leaves were taken twice a week during three weeks. Moreover, pigment (chlorophylls and carotenoids) contents of control and parasitized sunflower were determined spectrophotometrically at the end of the experiment. Significant decreases in F440 and F520 were observed in infected plants as early as two weeks after inoculation (wai), and they remained significant along the whole experiment. Similarly, the value of F440/F520 was lower than in the controls throughout the experiment. Concerning pigments content, significant differences between inoculated and control plants were obtained only for the fourth leaf pair. Finally, canopy temperature in infected plants was consistently higher in all measurements. The decreases in fluorescence emission in sunflower suggest a down-regulation of the secondary metabolism upon parasite infection. On the other hand, increases in canopy temperature of infected plants point to an alteration in sunflower transpiration due to stomatal closure as a response of sunflower to the infection by *O. cumana*. To conclude, these results show that the non-destructive techniques BGF and thermography could be used as indicators of broomrape infection in sunflower plants as early as 2 wai.

SESIONES SIMULTÁNEAS II
ABILIO CALDERÓN (A)
INTERACCIÓN PLANTA-MICROORGANISMO

DESARROLLO DE UN PRODUCTO BIOPLAGUICIDA BASADO EN *Lactobacillus plantarum* PARA EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA

Daranas, N., Roselló, G., Cabrefiga, J., Francés, J., Badosa, E., Montesinos, E., Bonaterra, A.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus Montilivi, 17071 Girona, España. nuria.daranas@udg.edu

Las bacterias del ácido láctico (BAL) se consideran a nivel de actividad y de bioseguridad excelentes candidatas para el desarrollo de nuevos bioplaguicidas. En este trabajo se caracterizaron 45 aislados de *Lactobacillus plantarum* obtenidos a partir de plantas con el fin de seleccionar cepas líderes como bioplaguicidas para el control de bacteriosis de cuarentena.

En primer lugar, se estudió la actividad antagonista *in vitro* de los 45 aislados frente a bacterias fitopatógenas (*Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *P. syringae* pv. *actinidiae*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* y *Xanthomonas fragariae*). La diversidad genética del conjunto de cepas se determinó mediante *Multilocus sequence typing* (MLST). Se seleccionaron las cepas TC92 y PM411 por su amplio espectro de antagonismo *in vitro* y por presentar perfiles alélicos MLST distintos. Posteriormente, se confirmó su eficacia elevada en el control del fuego bacteriano del peral, chancro bacteriano del kiwi, mancha bacteriana de los frutales de hueso y mancha angular de la fresa en ensayos en planta en condiciones controladas de invernadero. Con el fin de disponer de medios para estudiar su colonización y supervivencia en campo se ha desarrollado una PCR cuantitativa. Además, para mejorar la capacidad de colonización y supervivencia en la planta, se estudiaron estrategias de mejora fisiológica, mediante estrés salino o ácido durante su cultivo. También se evaluó la tolerancia a la desecación de ambas cepas pre-adaptadas y su respuesta a nivel de expresión de genes marcadores de estrés mediante RT-qPCR (*groEL*, *dnaK*, *ftsH*, *ctsR*, *clpB*, *clpC*, *hsp1*, *hsp2*, *hsp3*, *cspP*, *cspL*, *eftU*, *trxB1*). Finalmente, se estudió el efecto de la preadaptación en su supervivencia en las plantas (flores/hojas) en condiciones ambientales controladas. La adaptación osmótica en la cepa PM411 incrementó la resistencia a las condiciones de estrés, lo que permitirá la formulación de un producto bioplaguicida.

*Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL-2012-39880-C02-01 del MINECO cofinanciado con fondos FEDER, en el marco del proyecto FP7-KBBE.2013.1.2-04 613678 DROPSA de la UE y por una beca 2015 FI_B 00515.

PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS EFECTIVOS EN EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA

Badosa, E., Cabrefiça, J., Montesinos, L, Ruz, L., Montesinos, E.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, 17071 Girona. E-mail: esther.badosa@udg.edu

Los péptidos antimicrobianos sintéticos (PAM's) ofrecen buenas expectativas para el desarrollo de estrategias de control integrado de bacteriosis de cuarentena, al presentar una eficacia comparable a la de los antibióticos. Péptidos pertenecientes a quimiotecas CECMEL11 (PAM's lineales de 11 aminoácidos derivados de un híbrido cecropina A - Melitina) o CYCLO10 (PAM's cíclicos de 10 aminoácidos derivados de c(KLKLKFKLKQ)), han mostrado efectividad en el control de enfermedades causadas por distintas bacterias fitopatógenas de cuarentena como *Erwinia amylovora* y *Xanthomonas axonopodis* pv. vesicatoria. Actualmente, existe un gran interés en el control de las enfermedades de cuarentena causadas por *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* en kiwi, *Xanthomonas fragariae* en fresón y *X. arboricola* pv. *pruni* en *Prunus*, que tienen un elevado impacto económico por las pérdidas de producción que suponen.

Con el fin de estudiar su actividad frente a estas bacteriosis de cuarentena se ha determinado la actividad antibacteriana *in vitro* de una selección de péptidos de la librería CECMEL-11 y derivados de ésta con D-aminoácidos, alargados en el grupo carboxil terminal, con peptidotriazoles, péptidos biarílicos, y péptidos basados en secuencias análogas de fengicinas e iturinas. En cuanto a los péptidos de la librería CYCLO10, se incluyeron lipopéptidos cíclicos, derivados biarílicos y con peptidotriazoles, y finalmente una secuencia ciclada perteneciente a una iturina. Se obtuvieron buenos resultados con diversos péptidos pertenecientes a las dos quimiótecas, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) en el rango de 1,25-6,25 µM, como la de los antibióticos de referencia (p.e. estreptomycin). Con una selección de los péptidos más activos, se ha determinado la capacidad de inhibición de las infecciones *in planta* en plantas de kiwi, fresa y melocotonero en maceta en condiciones de bioseguridad en ambiente controlado en invernadero, ya que se trata de enfermedades de cuarentena. Además se ha constatado en ensayos de semi-campo su eficacia en condiciones agronómicas.

Project DROPSA UE.FP7-KBBE.2013.1.2-04 GA no: 613678.

NUEVOS AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO BACTERIANOS PARA EL CONTROL DE *Botrytis cinerea* EN EL VIÑEDO BORDELES

Calvo-Garrido, C.¹, Aveline, N.², Davidou, L.³, Gautier, T.¹, Haidar, R.¹, Roudet, J.¹, Fermaud, M.¹

¹ INRA, UMR 1065 Santé & Agroécologie du Vignoble, ISVV, Université de Bordeaux, CS 20032, 33882 Villenave d'Ornon Cedex, France

² Institut Français de la Vigne et du Vin – Vinopôle Bordeaux-Aquitaine. 39 rue Michel Montaigne 33290 Blanquefort. France.

³ Chambre d'Agriculture de la Gironde (CA33) – Service Vigne et Vin. CS 20115. 33295 Blanquefort cedex. France

La podredumbre del racimo causada por *B. cinerea* es una de las principales enfermedades fúngicas en los viñedos del área de Burdeos (Francia), mientras que el control biológico con microorganismos es considerado como una de las estrategias de control con mayor potencial de cara a la reducción del uso de fungicidas químicos de síntesis. Varios trabajos previos han mostrado el potencial antagonista contra *B. cinerea* de algunas cepas bacterianas de las colecciones del INRA Bordeaux-Aquitaine y la Universidad de Bordeaux. A partir de una lista de 10 cepas con demostrada eficacia *in vitro* e *in vivo*, dos cepas fueron seleccionadas (S22 y S38). Diversos ensayos fueron realizados para comprobar su capacidad de supervivencia en condiciones climáticas simuladas, así como para seleccionar un adyuvante compatible para su aplicación en campo. Durante la campaña vitícola de 2015, las dos cepas fueron aplicadas en campo (cv. Merlot) en base a un calendario de cinco aplicaciones en estados fenológicos seleccionados o siguiendo un modelo de riesgo de infección. Los resultados mostraron reducciones respecto al control no tratado de 45-58 % y 72-75 % de la incidencia y 53-56 % y 71-89 % de la severidad de la podredumbre para las cepas S22 y S38, respectivamente, aunque las diferencias fueron significativas solo en el caso de S38. La eficacia fue comparable a la de otros agentes de control biológico registrados en Francia, que fueron testados en el marco del proyecto BIOBOT.

CUCUMIS METULIFERUS COMO POTENCIAL PORTAINJERTO DE MELÓN PARA EL CONTROL DE MELOIDOGYNE SPP.

Expósito, A.¹, López-Gómez, M.¹, Munera, M.¹, Giné, A.¹, Nogales, S.¹, Ramos, J.¹, Pujolà, M.¹, Achaerandio, I.¹, Picó, B.², Gisbert, C.², Sorribas, FJ.¹

¹Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels, Barcelona; E-mail: francesc.xavier.sorribas@upc.edu

² COMAV-Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

Se evaluó la eficacia de *C. metuliferus* sobre las densidades de población de *M. incognita*, la producción y calidad de melón, y la potencial selección de poblaciones virulentas. El melón cv. Paloma, sin injertar o injertado sobre *C. metuliferus*, se cultivó en primavera y verano en invernadero en rotación con tomate susceptible cv. Durinta, sin injertar o injertado en el portainjerto resistente Aligator, en suelo sin infestar e infestado con *M. incognita*. Cada tratamiento se repitió 10 veces. Se determinaron las densidades del nematodo en pre-trasplante y al final del cultivo, el número de huevos en raíz, índice de agallas y producción de melón. Al final del cultivo, los huevos extraídos de raíz de melón injertado y no injertado se utilizaron para obtener juveniles que fueron inoculados en *C. metuliferus* y melón para determinar la potencial selección de virulencia.

En el cultivo de primavera, la densidad del nematodo en suelo, huevos por gramo de raíz, e índice de agallas al final del cultivo de melón injertado fue 84, 39, y 53% menos que en el no injertado. La producción de melón injertado fue 3,8 veces mayor que en el no injertado. En el cultivo de verano, la mayoría de plantas no injertadas murieron a causa del nematodo, mientras que las plantas injertadas sobrevivieron y produjeron 17,4 veces más. Se apreciaron algunas diferencias en cuanto a parámetros de calidad de los frutos, algunas causadas por el nematodo y otras por el injerto. Al final de los cultivos de primavera y verano, no se detectó selección de virulencia, ya que la reproducción de la población obtenida de melón injertado no difirió de la obtenida del no injertado.

C. metuliferus es un buen candidato como portainjerto de melón para el control de *Meloidogyne* spp. y para reducir las pérdidas de producción.

Agradecimientos al Ministerio de Economía y Competitividad por financiar los proyectos AGL2013-49040-C2-1-R y AGL2014-53398-C2-2-R (cofinanciados con fondos FEDER)

AISLADOS DE LA FAMILIA XYLARIACEAE COMO NUEVOS AGENTES DE BIOCONTROL DE LA PODREDUMBRE BLANCA RADICULAR DE AGUACATE

Arjona-Girona, I. y López-Herrera, C.J.

Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

Rosellinia necatrix Prill. es el agente causal de la podredumbre blanca radicular (PB) del aguacate. Durante Junio de 2012, se realizó un muestreo de árboles afectados por PB en plantaciones comerciales de la costa sur para la obtención de aislados hipovirulentos del patógeno con posible efecto de biocontrol. Se seleccionaron 17 árboles con raíces colonizadas por *R. necatrix* pero vegetando normalmente (árboles escape), enterrándose brotes trampa de aguacate alrededor del tronco de cada árbol. A los 2, 4 y 6 meses se realizaron extracciones de los brotes y posteriormente aislamientos y cámaras húmedas de éstos, obteniéndose un total de 79 aislados fúngicos, seleccionándose 40 de ellos por similitud con colonias de *R. necatrix* en PDA. Tras extracción de ADN, amplificación por PCR con primers ITS4 e ITS5 y secuenciación; y apoyado por las características morfológicas culturales se identificaron 19 aislados como *R. necatrix* y 21 aislados posiblemente pertenecientes al género *Entoleuca* sp. (actualmente en estudio), un género muy cercano evolutivamente a *R. necatrix* y poco estudiado hasta el momento. La patogenicidad de todos estos aislados se testó sobre plantas de *Lupinus luteus* L. y adicionalmente se confirmó también en plantas de aguacate cv. Topa-Topa de tres meses de edad. Todos los aislados de *R. necatrix* resultaron patogénicos en ambos huéspedes, en cambio los aislados de *Entoleuca* sp. resultaron no patogénicos. Se evaluó el potencial biocontrol sobre la PB de los aislados de *Entoleuca* sp. sobre plantas de aguacate del cv. Topa-Topa de cuatro meses de edad obteniéndose biocontrol en un 86 % de los aislados. Con este hallazgo se sientan las bases de una nueva línea de investigación de utilización de estos hongos de la familia Xylariaceae como agentes de biocontrol de la podredumbre blanca del aguacate.

RESPUESTA CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE LA MICROBIOTA DEL MELOCOTONERO A LAS APLICACIONES BIOLÓGICAS DE LOS AGENTES DE BIOCONTROL *Penicillium frequentans* (Pf909) Y *Bacillus subtilis* (CPA8)

¹Guijarro, B., ¹Rodríguez-Pires, S., ¹Larena, I., ²Teixido, N., ¹ Melgarejo, P., ¹De Cal, A.

¹Departamento en Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera de La Coruña Km 7,5, 28040, Madrid. E-mail: cal@inia.es

² Departamento de Patología postcosecha (IRTA), Parc Científic i Tecnològic de Gardeny, FRUITCENTRE, 25003 Lleida, Catalonia.

La aplicación continuada de productos químicos para el manejo del cultivo puede producir cambios en la composición y actividad de la microbiota de la planta hospedadora y consecuentemente desequilibrios en poblaciones que favorezcan el desarrollo de organismos patógenos. El control biológico de patógenos aéreos es función de la interacción, actividad y composición de la comunidad microbiota. El nivel de control de la enfermedad dependerá no obstante de otras múltiples variables que intervienen en esta interacción, como es la planta hospedadora y las variables ambientales. Nuestro objetivo es la caracterización y cuantificación de la diversidad genética de hongos y bacterias en la superficie de la planta en campos comerciales de melocotoneros y nectarinas y su respuesta a la aplicación de dos biofungicidas en proceso de registro *Bacillus subtilis* cepa CPA8 y *Penicillium frequentans* aislado 909 empleados para el control de la podredumbre parda en melocotoneros.

La diversidad genética de hongos y bacterias fue determinada mediante el empleo de electroforesis en gradiente desnaturizante, 16S rDNA e ITS-PCR DGGE, respectivamente. La cuantificación microbiana se efectuó mediante el análisis de la actividad enzimática por hidrólisis de diacetato de fluoresceína, (FDA). La incidencia de enfermedad se evaluó 15 días antes de cosecha y en cosecha mediante conteo de conidias de *Monilinia* spp. por superficie de fruto.

Los métodos empleados aportaron información adecuada para la valoración del efecto de los biofungicidas sobre la microbiota epifita del fruto y los cambios a lo largo de la maduración del fruto. La microbiota viable se mantiene cuantitativamente constante y el patrón de la microbiota dominante no varía a lo largo de la maduración. El agente de control Pf 909 no tiene un efecto significativo sobre la microbiota afectando en menor medida que los fungicidas, mientras que la cepa CPA8 aumenta cuantitativamente la población bacteriana. El análisis multivariable de la diversidad genética de bacterias y hongos así como su evolución muestran diferencias significativas entre tratamientos, momentos de aplicación y campos. El control de incidencia de enfermedad obtenido es superior al 72% respecto al control sin tratar.

Investigación financiada por 612713 BIOCOTES fondos FEDER.

ALTERNATIVA DE CONTROL BIOLÓGICO DEL CAMANDULEO DE LA PAPA OCASIONADA POR *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*

Mesa-Quijano, P.¹, García-Domínguez, C.², Cotes-Prado, A.M.³

^{1,2} Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias. Ciudad Universitaria Carrera 45 Bogotá, Colombia. e-mail: pemesaq@unal.edu.co¹
cgarciad@unal.edu.co²

³ Corporación Colombiana para la Investigación Agropecuaria, Corpoica Tibaitatá Km 14 vía Mosquera Cundinamarca. E-mail: amcotes@corpoica.org.co

El protozooario *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* agente causal de la sarna polvosa y camanduleo de la papa, ocasiona en Colombia pérdidas de hasta el 50 % de la cosecha. Dada la importancia del cultivo, se pretende generar una alternativa para su control. Para tal fin, en una primera etapa se estableció un protocolo para el desarrollo del camanduleo con dos concentraciones de inóculo, 8.8×10^3 y 1×10^5 esporos/ross/g de suelo en tres condiciones ambientales. En la segunda etapa se evaluó en los cultivares Parda Pastusa y Diacol Capiro ocho microorganismos potencialmente biocontroladores: tres cepas de *Trichoderma* sp. a 1×10^6 conidios/mL, dos rizobacterias a 1×10^8 UFC/mL y tres actinomicetos en dilución 1:100. La inoculación se realizó por inmersión del tubérculo durante 10 min y aplicación de 50 mL al suelo 30 días después de siembra. Adicionalmente se evaluaron tres aditivos orgánicos, quitina y quitosán al 0.1 % y 0.5 % aplicados por inmersión del tubérculo durante 10 min y biocarbón en mezcla con el suelo al 1 %. En la primera etapa, se logró reproducir la enfermedad encontrándose diferencias significativas ($P < 0.001$) entre los ambientes evaluados pero no entre las concentraciones de inóculo del patógeno. En la segunda etapa con los biocontroladores, se observó disminución del desarrollo del camanduleo en el cultivar Parda Pastusa con el uso de *Streptomyces misionensis* Ac006 en un 49.03 %, seguido de *Pseudomonas fluorescens* Ps006 con el 40.34 %. En Diacol Capiro *Trichoderma koningiopsis* Th003 disminuyó en mayor proporción la cantidad de agallas con un 74.22 %, seguido de *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006 con 53.13 %. Con los aditivos orgánicos en el cultivar Parda Pastusa, el quitosán al 0.5 % disminuyó significativamente ($P < 0.0085$) el número de agallas en un 67.74 %. Estos resultados son promisorios para el manejo para esta enfermedad que no cuenta con prácticas de control efectivas.

TREE RESPONSE AND MANAGEMENT OF THE EMERGENT DISEASE IN NORTHEASTERN NORTH AMERICA: WHITE PINE NEEDLE DAMAGE (WPND) ASSOCIATED WITH CHANGES IN PATHOGEN PRESSURE IN RESPONSE TO CLIMATE CHANGE

Munck, I.A.¹, Asbjornsen, H.², Broders, K.³, McIntire, C.², Wyka, S.³

¹ Forest Health Protection, USDA Forest Service, 271 Mast Rd, Durham, NH 03824, USA, imunck@fs.fed.us.

² Dept. of Natural Resources and the Environment, University of New Hampshire, Durham, NH 03824, USA.

³ Department of Bioagricultural Sciences and Pest Management, Colorado State University, 307 University Ave, Fort Collins, CO 80521, USA.

White pine needle damage (WPND) is an emerging problem in New England and eastern Canada where *Pinus strobus* is of great historic, ecological, and economic importance. White pine needle damage was exceptionally severe during 2010 following a very wet spring in 2009. During 2010 more than 24,000 hectares were damaged and symptoms resurfaced every year since then. Symptoms include chlorotic foliage in June followed by defoliations in June-July, growth reduction, and death. The ascomycete *Leconostica acicola* is the primary pathogen associated with WPND, however, several other needle pathogens have been observed in conjunction with *L. acicola*; including *Lophophacidium dooksii*, *Bifusella linearis*, and a putative new species of *Septorioides*. No single species, nor a specific combination of species had a dominating presence in particular states or regions. In addition, regional weather data confirmed the trend of increasing temperature and precipitation observed in this region with the previous year's May, June, and July rainfall being the best predictor of defoliation events the following year. Our results clearly demonstrate the role changing climate patterns have on the health of eastern white pine in the northeastern United States. We also aim to quantify the impacts of WPND on the carbon and water balance of infected trees, identify the physiological mechanisms driving growth declines, and derive silvicultural management prescriptions for mitigating WPND in the northeastern US.

SESIONES SIMULTÁNEAS III
TEATRO PRINCIPAL (C)
CONTROL

LOSS OF *CPLS* GENE FUNCTION LEADS TO HYPERVIRULENCE IN THE MAIZE PATHOGEN *COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA*

Sanz Martín J. M.¹, Baroncelli R.², Thon M. R.¹ and Sukno S. A.¹.

¹Instituto Hispanoluso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Department of Microbiology and Genetics, University of Salamanca, 37185 Villamayor, Spain.

²Laboratoire Universitaire de Biodiversité et Ecologie Microbienne (LUBEM), University of Western Brittany, Avenue du Technopole, 29280 Plouzané, France

Colletotrichum graminicola is an ascomycete fungus that causes maize anthracnose, one of the most devastating maize diseases worldwide. Previously, our group discovered the a subtilisin-like serine protease encoding gene named *Colletotrichum* plant-like subtilisin (*CPLS*) that was acquired by *Colletotrichum spp.* from plants through horizontal gene transfer (HGT). New phylogenetic analyses have revealed that *CPLS* homologs are present in all members of the genus *Colletotrichum* and in only one other fungal genus, *Diaporthe*. *In vivo CPLS* expression analyses using qRT-PCR and transcriptional fusions with the *CPLS* promoter and *GFP* showed that *CPLS* is expressed during the early stages of infection, reaching a maximum gene expression at 48 hours post-infection. To understand the role of the protein in virulence, we prepared *CPLS* null mutants by gene replacement. The null mutants showed similar growth rate, sporulation rate and colony morphology as the wild-type strain. To test the effect of the absence of *CPLS* in the maize anthracnose process, leaf pathogenicity assays were performed and resulted in a hypervirulent phenotype, supporting a role of *CPLS* in fungal virulence during plant-fungus interaction. In contrast, no differences between the *CPLS* null mutant and wild-type strain were seen during root infection assays indicating that the role of *CPLS* in virulence is tissue specific. To further study the role of *CPLS* function, we constructed *CPLS* constitutively expressing strains but they did not show differences as compared to the wild-type strain during anthracnose assays. We also measured the expression of several maize genes related to pathogen defense during infection with the *CPLS* null strain and observed that two genes involved in plant cell death were differentially regulated. Our hypothesis is that *CPLS* is a conserved effector in *Colletotrichum* with a role in pathogenesis and may play an important role in the modulation of host immunity.

LA FAMILIA GÉNICA *FTF* REGULA LA VIRULENCIA Y LA EXPRESIÓN DE LOS EFECTORES SIX EN *Fusarium oxysporum*

Niño-Sánchez, J.¹, Casado-del Castillo, V.¹, Tello, V.¹, de Vega-Bartol, J.J.², Ramos, B.³, Sukno, S.A.¹, Díaz-Mínguez, J.M.¹

¹ Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Dpto. de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca. C/ Río Duero 12, Villamayor, 37185 Salamanca, Spain. josediaz@usal.es

² The Genome Analysis Center (TGAC), Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, UK.

³ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP), Universidad Politécnica de Madrid-INIA, Campus de Montegancedo, Pozuelo de Alarcón, 28223, Madrid, Spain.

La familia génica *FTF* de *Fusarium oxysporum* comprende un gen monocopia, *FTF2*, que se encuentra presente en todos los ascomicetos filamentosos, y un número variable de copias parálogos del gen *FTF1*, las cuales muestran una elevada semejanza con *FTF2* y son exclusivas de *F. oxysporum*. El número de parálogos de *FTF1* varía en función de las formas especiales consideradas y del grado de virulencia de las distintas estirpes. En *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* se encuentran 10 parálogos de *FTF1*, en tanto que en *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* hemos detectado 4 copias en las estirpes muy virulentas y hasta 5 copias en las supervirulentas. Todos los parálogos de *FTF1* se alojan en cromosomas LS (lineage specific), en tanto que *FTF2* está ubicado en el genoma central (core genome). Las regiones LS constituyen el denominado genoma adaptativo, donde se alojan genes implicados en la virulencia y la especificidad de hospedador, en contraposición al genoma central donde se alojan los genes implicados en el metabolismo primario y las funciones fisiológicas básicas.

Hemos desarrollado un sistema de silenciamiento génico que ha permitido atenuar de forma eficiente la expresión de los genes *FTF* en las formas especiales *phaseoli* y *lycopersici*. El análisis funcional de las estirpes en las que se comprobó una reducción significativa de dicha expresión, y el de transformantes con expresión constitutiva de un parálogo *FTF1*, demuestra que la familia génica *FTF*, principalmente los parálogos *FTF1*, constituye un regulador maestro de la virulencia en *F. oxysporum* y un determinante fundamental para la colonización eficaz de los haces xilemáticos, el rasgo principal de la fusariosis vascular. El mecanismo implicado, al menos en parte, es el control de la expresión de los genes codificadores de efectores SIX.

PO212 INDUCES RESISTANCE IN PEPPER AGAINST *Verticillium dahliae*

Lois, M.¹, Veloso, J.¹, García, T.¹, Larena, I.², Díaz, J.¹

¹ Grupo de Investigación de Fisiología e Aplicacións das Plantas (FISAPLANT), Departamento de Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, Campus de A Coruña, 15071 A Coruña, Spain. josefv@udc.es

² INIA, Ctra. de A Coruña, km 7.5, 28040 Madrid, Spain.

The soil-borne pathogenic fungus *Verticillium dahliae* causes Verticillium wilt, a disease that affects pepper crops in Galicia (NW Spain). Recently, we demonstrate that *Penicillium rubens* strain 212 (PO212) is an effective biocontrol agent against Verticillium wilt of pepper. Plants treated with PO212 showed a reduction of Verticillium disease symptoms as wilted leaves and dwarfism. One of the modes of action of PO212 is induced resistance. Before inoculation with the pathogen, PO212 changed several physiological parameters related to resistance in pepper. qPCR assays showed that PO212 induced the expression of genes *CaSCI* (involved in phytoalexin biosynthesis), *CaBPR1* (a PR1 gene), *CaPO1*, *CaPO2* and *CanPOD* (three peroxidase genes), *CaAOS* (involved in jasmonate biosynthesis) and *CaACS3* (involved in ethylene biosynthesis). On the other hand, PO212-treated plants show a reduction in soluble phenolics, but an increase in lignin. The increase in lignin correlated with both the induction of peroxidase gene expression and the increase in peroxidase activity, measured spectrophotometrically. Lignin is a cell wall polymer synthesized by the action of peroxidases. Other enzymes that showed higher activity in PO212-treated plants were chitinase and β -1,3-glucanase (two PR-proteins, related with plant defense). The results suggest that a defense response was induced by PO212, that made the pepper plants stronger at the time of inoculation with the pathogen. The response after the inoculation with *Verticillium dahliae* is also being studied, in order to monitor changes caused by the interaction with the pathogen.

Research supported by grants RTA2013-00060-C05-01 and RTA2013-00060-C05-02 from Ministerio de Economía y Competitividad-INIA co-financed with FEDER funds from the European Union.

RESISTENCIA FRENTE A *Colletotrichum acutatum* EN FRUTOS DE FRESA: PRUEBA DE FUNCIÓN DE GENES MEDIANTE ENSAYOS DE EXPRESIÓN TRANSITORIA

Higuera-Sobrino, J.J.¹, Arjona-Girona, I.², Amil-Ruiz, F.¹, Garrido-Gala, J.¹, Lekhbou, A.¹, Arjona-López, J.M.², Moyano, E.¹, Muñoz-Blanco, J.¹, López-Herrera, C.J.², Caballero, J.L.¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Edif. Severo Ochoa-C6, Planta Baja-Ala Norte. Campus de Rabanales s/n. Universidad de Córdoba-14071.E-mail: bb1carej@uco.es

²Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

La fresa (*Fragaria ananassa*) es fuente de vitaminas, antioxidantes y metabolitos de múltiples beneficios para la salud. Su producción anual en España (tercer productor mundial) supera 200.000 toneladas (>300 millones euros) y sufre la acción de gran variedad de organismos fitopatógenos que causan importantes pérdidas. En general, las plantas han desarrollado mecanismos de defensa naturales frente al ataque de patógenos. En plantas modelo, existe gran evidencia de que miembros de las familias génicas NPR, WRKY o E3-Ubiquitin ligasas, entre otras, son clave para la activación de rutas moleculares que conducen a la defensa. En fresa, hemos identificado genes homólogos a miembros de dichas familias. Para conocer la verdadera función de dichos genes hemos obtenido construcciones plasmídicas, mediante sistema Gateway, para sobreexpresión/silenciamiento de los mismos en la fresa y hemos desarrollado un sistema de ensayo fitopatológico tras su expresión transitoria en fruto. Así, a frutos de fresa se inyectó (a una mitad del fruto) una suspensión de *Agrobacterium tumefaciens* portadora de la construcción de interés. A las 48h estos frutos se inocularon con *Colletotrichum acutatum* en ambas mitades, mediante filtros-disco (5 mm) estériles previamente sumergidos en suspensión de 10⁴conidias/mL. Tras 5 días se realizaron cortes longitudinales desde los puntos de inoculación, evaluándose la penetración fúngica según escala 1-3 (1 fruto sano, 2 penetración moderada y 3 penetración profunda) en cada una de las 2 caras (agroinyectada/no agroinyectada), obteniéndose de esta forma un ratio (valor zona-agroinyectada/valor zona-no agroinyectada) para cada fruto. Análisis preliminares muestran diferencias entre frutos control (no agroinyectados y agroinyectados medio Murashige-Skoog) y frutos agroinyectados con construcciones de genes tipo NPR y WRKY, que permiten implicarlos de forma inequívoca en defensa. Según estos resultados actualmente poseemos un sistema fiable de ensayo de susceptibilidad a *C. acutatum*, lo que permitirá evaluar la implicación de genes en defensa a este patógeno.

EFFECTO DE LA HUMEDAD DEL SUELO EN LA VIRULENCIA DE *Phytophthora Cinnamomi* EN RAÍZ DE ALCORNOQUE

González, M.¹, García-Lavado, J.M.¹, Homet, P.², Gómez-Aparicio, L.², Romero, M.A.¹

¹ Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Ctra. Madrid-Cádiz Km 396, 14014 Córdoba, España.

² Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avda. Reina Mercedes 10, 41012 Sevilla, España.

Los modelos de cambio climático prevén para el área mediterránea una reducción de la precipitación (Lindner et al. 2010) que podrá repercutir de forma directa en los patógenos de suelo que afectan a los bosques mediterráneos. En este trabajo se analizó el efecto de la humedad del suelo y la densidad de inóculo de *Phytophthora cinnamomi* en el desarrollo de la podredumbre radical de *Quercus suber* en condiciones controladas. Se prepararon macetas con 2.5 L de suelo (arena, limo, arcilla, turba y suelo natural, 55:20:10:10:5 w/w) con concentraciones crecientes de clamidosporas según cuatro niveles de inóculo: sin inóculo (testigo), bajo (30 ufc·g⁻¹), medio (60 ufc·g⁻¹) y alto (120 ufc·g⁻¹) (Serrano et al. 2015) y posteriormente se trasplantaron alcornoques de 1 año. Además, las plantas se mantuvieron bajo cuatro regímenes hídricos diferentes: 100% de la capacidad de retención de agua (CRA), 50%, 40% y 15% de la CRA. Se prepararon 10 repeticiones (macetas con una planta) por régimen hídrico y nivel de inóculo, manteniéndolas en umbráculo protegido de la lluvia durante 3 meses. Semanalmente se evaluó el nivel de síntomas foliares (amarillez, marchitez y/o defoliación) y al final del ensayo se evaluó el porcentaje de raíz necrosada. *Phytophthora cinnamomi* fue capaz de infectar las raíces del alcornoque en todas las condiciones testadas. Las plantas desarrollaron una necrosis radical significativamente mayor que la de su correspondiente testigo (inóculo 0) a humedades ≥ 50 % CRA con independencia del nivel de inóculo aplicado al suelo. En los suelos con una humedad ≤ 40 % CRA, la necrosis radical sólo resultó significativa con respecto al testigo para niveles de inóculo ≥ 60 ufc·g⁻¹. Estos resultados muestran que *P. cinnamomi* es capaz de causar una necrosis radical significativa en alcornoques, incluso con una humedad del suelo muy baja (15% CRA) sin necesidad de altos valores de densidad de inóculo.

Lindner M et al. 2010. *Forest Ecology and Management*. 259:698-709.

Serrano MS et al. 2015. *Phytopathologia Mediterranea*. 54,3:461-464.

EFFECTO DE LA INFECCIÓN POR MICOVIRUS EN LA VIRULENCIA Y ACTIVIDAD DE LACASAS DE *Fusarium circinatum*.

Muñoz-Adalia, E.J.^{1,2}, Flores-Pacheco, J.A.^{1,2,3}, Martínez-Álvarez, P.^{1,2}, Martín-García J.^{1,2}, Fernández, M.^{1,4} and Díez, J.J.^{1,2}.

¹ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, Universidad de Valladolid – INIA, Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, España. emigdiojordan.munoz@uva.es.

² Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. Universidad de Valladolid. Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, España.

³ Facultad de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Bluefields Indian & Caribbean University- BICU. Avenida Universitaria, Apartado postal N° 88 Bluefields, Nicaragua.

⁴ Departamento de Ciencias Agroforestales. Universidad de Valladolid. Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, España.

Los enzimas lacasas (bencenodiol: oxígeno oxirreductasas, EC 1.10.3.2) desempeñan un papel relevante en la degradación de compuestos fenólicos como la lignina. Estos enzimas son segregados frecuentemente por los hongos y su importancia en el proceso de infección por fitopatógenos se ha sugerido. En el presente estudio se evaluó el efecto de la presencia de dos micovirus (*Fusarium circinatum* mitovirus 1 y 2-2), descritos para el agente causante de la enfermedad del chancro resinoso del pino, *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donell, en catorce cultivos monospóricos de dicho hongo. Las variables evaluadas fueron: (a) producción de lacasas extracelulares (medida mediante el test cualitativo Bavendamm y cuantificación espectrofotométrica), (b) patogenicidad sobre plántula de *Pinus radiata* D. Don (evaluación de daños y análisis de supervivencia) y (c) crecimiento colonial del hongo hospedante. Los resultados mostraron que el crecimiento colonial fue homogéneo entre hongos procedentes de la misma población (Cantabria, España). La patogenicidad *in vivo* pareció verse incrementada en presencia de infección por micovirus (especialmente con el virus *Fusarium circinatum* mitovirus 1) mientras que la co-infección tuvo un efecto críptico en el hongo. Adicionalmente, la producción de lacasas resultó heterogénea entre aislados y pareció estar correlacionada con la patogenicidad. Se aportan conclusiones sobre el papel de los virus como agentes implicados en la virulencia del hongo y el potencial de los enzimas lacasas como herramientas auxiliares durante la infección de *F. circinatum* en planta hospedante.

SESIONES SIMULTÁNEAS III
DIPUTACIÓN PROVINCIAL (D)
EPIDEMIOLOGÍA / CONTROL

EPIDEMIAS DEL VIRUS DEL RIZADO DE LA HOJA DEL TOMATE DE NUEVA DELHI EN LA CUENCA MEDITERRÁNEA OCCIDENTAL: DISPERSIÓN DE UNA CEPA CON BAJA PATOGENICIDAD EN TOMATE Y RIESGO PARA LOS CULTIVOS DE HORTALIZAS.

I.M. Fortes, S. Sánchez-Campos, E. Fiallo-Olivé, J.A. Díaz-Pendón, J. Navas-Castillo and E. Moriones

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora" (IHSM-UMA-CSIC), Algarrobo-Costa, Málaga, Spain

El virus del rizado de la hoja del tomate de Nueva Delhi (ToLCNDV) (género *Begomovirus*, familia *Geminiviridae*) comprende un grupo complejo de begomovirus bipartitos ampliamente distribuido por el subcontinente Indio y otros países asiáticos. Recientemente, se han descrito epidemias de ToLCNDV en la cuenca Mediterránea occidental (España, Túnez e Italia) ocasionadas por aislados muy relacionados genéticamente y que están causando graves daños en cultivos de cucurbitáceas (Juárez *et al.*, 2014, *Plant Dis.* 98: 857; Mnari-Hattab *et al.*, 2015, *New Dis. Rep.* 31: 21; Panno *et al.*, 2016, *New Dis. Rep.* 33: 6). En este trabajo se han estudiado las epidemias de este virus en España, mostrando que están implicados aislados de una nueva cepa de ToLCNDV con evidencias de eventos de recombinación en su genoma. La construcción de un clon infectivo así como el análisis de aislados naturales permite concluir que los aislados de esta cepa muestran una alta patogenicidad en calabacín y otras especies de cucurbitáceas pero baja infectividad en tomate. Sin embargo, estos aislados son capaces de ocasionar infecciones persistentes en este último huésped. Se han estudiado las consecuencias de posibles coinfecciones en tomate con otros begomovirus que han ocasionado epidemias tales como los causantes de la enfermedad del rizado amarillo del tomate (TYLCD) (e.g. el virus del rizado amarillo del tomate, TYLCV).

ANÁLISIS DE LOS COSTES QUE LIMITAN LA EXPANSIÓN DE LA GAMA DE HUÉSPED EN LOS TOBAMOVIRUS

Moreno-Pérez M.G., Bera, S., Fraile, A. y García-Arenal, F.

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (UPM-INIA)

y E.T.S.I. Agrónomos, Campus de Montegancedo, Universidad Politécnica de Madrid, Pozuelo de Alarcón (Madrid).

La expansión de la gama de huéspedes confiere a un virus nuevas oportunidades de transmisión y supervivencia, pero puede estar limitada por costes biológicos que se manifiestan en compromisos de eficacia entre huéspedes. Un caso particular es la superación de la resistencia de los cultivos: los modelos suponen que la superación de la resistencia tiene un coste biológico en los huéspedes susceptibles (coste de infectividad). Estos costes se han demostrado en el caso de los patotipos de tobamovirus que superan la resistencia del gen L en pimiento (Fraile et al. 2014). Para identificar las causas de estos costes se han obtenido clones infecciosos de cDNA a partir de aislados de campo del virus del moteado atenuado del pimiento (PMMoV) que superan la resistencia del alelo L2, y en ellos se han introducido todas las mutaciones descritas como responsables de la superación de los alelos L3 y L4. Los genotipos parentales y mutantes se ensayaron en los genotipos susceptibles de pimiento L+/L+, L1/L1, L2/L2 y L3/L3. Se cuantificó la acumulación de virus como estima de su eficacia, y su virulencia como reducción de la biomasa de las plantas infectadas. Los resultados muestran que la acumulación viral depende de la interacción entre el genotipo del virus y el del huésped, indicando efectos pleiotrópicos de las mutaciones de superación de la resistencia, que pueden ser positivos o negativos. Similarmente, la eficacia de los genotipos de patotipo P0, que no superan ninguna resistencia, depende de la planta huésped. Las mutaciones responsables de la superación de la resistencia también afectaron a la virulencia. Estos resultados demuestran que la superación de la resistencia depende no sólo de los alelos de resistencia usados en los cultivos sino del genotipo de los huéspedes susceptibles, destacando la dificultad de predecir la durabilidad de la resistencia.

Fraile, A., et al. (2014). *Mol. Biol. Evol.* 31:982.

DESARROLLO DE UN MODELO DE PREDICCIÓN DE RIESGO DE LA MANCHA BACTERIANA DE LOS FRUTALES DE HUESO Y ALMENDRO

Morales, G., Llorente, I., Montesinos, E., Moragrega, C.

Institut de Tecnologia Agroalimentària-CIDSAV-XaRTA, Universitat de Girona, C/ Maria Aurèlia Capmany 61, 17071, Girona. gerard.morales@udg.edu

La mancha bacteriana de los frutales de hueso y almendro causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* es una enfermedad de cuarentena en la UE, de importancia creciente en España dado que amenaza en convertirse en epidemia debido a la rápida distribución de la bacteria. Por el momento no se conoce un método de control de la enfermedad eficaz, reduciéndose a tratamientos preventivos con derivados cúpricos y a medidas de cuarentena. El desarrollo de un modelo de predicción de riesgo de infección de la enfermedad permitirá asesorar en programas de control y vigilancia de la mancha bacteriana de los frutales de hueso, y optimizar los tratamientos.

Para desarrollar un modelo de predicción, se estudió el crecimiento *in vitro* y *ex vivo* de *X. arboricola* pv. *pruni* en función de la temperatura; y se determinó y modelizó el efecto de parámetros climáticos en el desarrollo de la enfermedad.

Se determinó la velocidad de crecimiento (μ_{max}) y la duración de la fase de latencia (λ) de la bacteria a cada temperatura (entre 5 y 35 °C), y ajustaron los valores a modelos matemáticos que describen μ_{max} y λ en función de la temperatura. Por otra parte, se realizaron ensayos en condiciones de ambiente controlado con plantas de *Prunus sp.* inoculadas con el patógeno y sometidas a distintas temperaturas (5 a 35 °C) y periodos de humectación (0 a 24 h). Los datos obtenidos se ajustaron a modelos matemáticos que relacionan la severidad de la enfermedad con la temperatura y la duración del período de humectación foliar (modelos de infección). Los modelos que mostraron un buen ajuste a los datos experimentales actualmente están en fase de validación.

Los modelos de crecimiento y de infección obtenidos se integrarán en un modelo global de predicción de riesgo de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y almendro.

Financiado por los proyectos SING 12/13 y BR 2013/31 de la Universitat de Girona, FPU13/04123 del MECD, y AGL2013-41405-R del MINECO.

EVALUACIÓN DE LA TRANSMISIÓN DE *Candidatus Liberibacter solanacearum* EN DIFERENTES CULTIVOS HORTÍCOLAS EN ESPAÑA.

Antolínez, C.A., Moreno, A. , Fereres, A.

Instituto de Ciencias Agrarias, Consejo Superior Superior de Investigaciones Científicas-CSIC. Calle Serrano 115 dpdo, 28006 Madrid, España. a.fereres@ica.csic.es

Candidatus Liberibacter solanacearum (Lso) es una bacteria fitopatógena restringida al floema que causa grandes pérdidas a la industria de la patata en América y Nueva Zelanda. Hasta el momento Lso no causa pérdidas en cultivos de patata en Europa pero sí importantes pérdidas económicas en cultivos de umbelíferas en España y norte de Europa. El psílido de la zanahoria, *Bactericera trigonica*, es el único vector conocido de Lso en España. Sin embargo, se han identificado otros potenciales vectores de Lso como *B. tremblayi*, asociada a diferentes cultivos hortícolas. Por tanto, es necesario determinar la transmisión de Lso a diferentes cultivos de umbelíferas y el riesgo de transmisión a cultivos de patata. Se evaluó la transmisión de Lso por *B. trigonica* y *B. tremblayi* en cultivos de apio, zanahoria y patata en ensayos con y sin libre elección, así como su preferencia por los diferentes cultivos. Además, se monitorizó mediante la técnica de gráficos de penetración eléctrica (EPG) el comportamiento alimenticio de los psíldos en los diferentes cultivos. *Bactericera trigonica* mostró una alta tasa de transmisión en apio ($\geq 57\%$) y zanahoria ($\geq 75\%$) pero fue incapaz de transmitir de manera eficiente Lso a plantas de patata ($\leq 1\%$). Por otro lado, *B. tremblayi* es capaz de adquirir Lso de zanahorias infectadas (44/400) aunque no de inocularla en plantas sanas de zanahoria (0/30). Los resultados de transmisión concuerdan con los obtenidos mediante la técnica EPG y demuestran que *B. trigonica* es un vector eficaz de Lso en zanahoria y apio pero no representa un riesgo importante para patata, además no hay evidencia para considerar a *B. tremblayi* como vector de Lso. Esta información es fundamental para entender la epidemiología de Lso en Europa y establecer factores de riesgo en diferentes cultivos potencialmente susceptibles.

ANÁLISIS GENÉTICO DE LAS DIFERENCIAS DE AGRESIVIDAD ENTRE AISLADOS DE CAMPO DE *Botrytis cinerea* RECOGIDOS SOBRE VID.

Acosta, W., Anta, F., Díaz-Mínguez, J.M., Thon, M., Benito, E.P.

Centro Hispano Luso de Investigaciones Agrarias. Dpto. de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca. Campus Villamayor. C. Río Duero, 12. 37185. Villamayor. Salamanca. España. epbenito@usal.es.

Las poblaciones naturales de *Botrytis cinerea* de los viñedos de Castilla y León muestran una gran diversidad genética y fisiológica. Una caracterización precisa de la agresividad de una colección representativa de aislados de campo ha permitido identificar individuos que muestran diferencias de agresividad muy notables en un espectro de variación continuo, incluyendo desde aislados muy agresivos hasta aislados absolutamente incapaces de infectar a la planta huésped. Para llevar a cabo un análisis genético de estas diferencias de agresividad se realizaron cruzamientos entre una cepa muy agresiva (448) y una cepa no agresiva (371) sexualmente compatibles. En la descendencia se determinó una segregación 1:1 del carácter “capacidad de infectar”, segregación indicativa de que la diferencia de agresividad observada entre las cepas 448 y 371 está determinada por un único gen de efecto mayor sobre la patogenicidad. Con el objeto de identificar el gen responsable se ha diseñado una estrategia basada en un “análisis de segregantes agrupados”. Esta estrategia ha supuesto, en una primera fase, la secuenciación de los genomas de los dos aislados parentales y la determinación de los polimorfismos existentes entre ambos. A continuación se ha analizado, también mediante secuenciación masiva, la distribución de estos polimorfismos en dos grupos de descendientes particulares, el primero integrado por descendientes tan agresivos como el parental con capacidad para infectar, y el segundo por descendientes que muestran el mismo fenotipo de patogenicidad que el parental incapaz de infectar. Este análisis ha permitido identificar un número reducido de variantes específicas de la cepa 371, no agresiva, para las cuales se predice un impacto funcional alto y que aparecen exclusivamente en el grupo de descendientes no agresivos. Los genes en los que se localizan estos polimorfismos son “genes candidato” en nuestro análisis cuya caracterización funcional se encuentra actualmente en curso.

DINAMICA DE POBLACIÓN DE *MELOIDOGYNE INCOGNITA* Y PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN DE TOMATE SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE.

Giné, A.; Sorribas, FJ.

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels, Barcelona; E-mail: francesc.xavier.sorribas@upc.edu

Meloidogyne spp. es el nematodo fitoparásito que causa mayores pérdidas de producción en horticultura. El uso de cultivares resistentes para su control es una alternativa sostenible y respetuosa con el medio frente al control químico, aunque, el cultivo reiterado puede seleccionar poblaciones virulentas.

En el presente estudio se determinó la dinámica de población de *M.incognita* y las pérdidas de producción asociadas en cultivo de tomate susceptible cv. Durinta y resistente cv. Monika (portador del gen *Mi*), cultivados de marzo a julio en invernadero durante tres años consecutivos.

Los grados día acumulados durante el cultivo en 2010, 2011 y 2012 fueron 1388, 1367 y 1770 (temperatura base 0°C), respectivamente. La dinámica de población de *M.incognita* en cultivo susceptible no difirió ($P<0,05$) durante los tres años, siendo la tasa máxima de multiplicación (a) de 3520 y la densidad de equilibrio (E) de 2151 juveniles por 250cm³ de suelo. En cultivo resistente, a aumentó ($P<0,05$) en cada cultivo (4, 22 y 114), al igual que E (16, 70 y 578), aunque ambos parámetros difirieron ($P<0,05$) con el susceptible. La relación entre la densidad del nematodo en pretransplante y la producción relativa de ambos cultivares se ajustó al modelo de Seinhorst. La tolerancia del cultivar susceptible osciló entre 2 y 4, y entre 1 y 16 juveniles en 250 cm³ en resistente. Las pérdidas máximas de producción fueron mayores ($P<0,05$) en el cultivar susceptible (51.9 a 87.3%) que en el resistente (13.3 a 28.3%).

Este estudio demuestra la efectividad del cultivar resistente para limitar el desarrollo de las poblaciones del nematodo y para reducir las pérdidas de producción del cultivo. No obstante, el incremento progresivo de las poblaciones indica la selección progresiva de individuos virulentos, aunque tres cultivos no son suficientes para que la población sea virulenta.

Agradecimientos a INIA y la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto RTA2010- 00017-C02

SESIONES SIMULTÁNEAS III
ABILIO CALDERÓN (A)
ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE *F. solani* EN SUELO Y PLANTAS DE FRESA MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL Y DETERMINACIÓN DE SU DIVERSIDAD

Capote, N., De la Lasta, E., Aguado, A., Basallote-Ureba, M.J.

IFAPA Centro Las Torres-Tomejil, Apdo. Oficial, 41200 Alcalá del Río, Sevilla, España.
marian.capote@juntadeandalucia.es

Fusarium solani es un hongo de suelo capaz de causar enfermedad a un amplio número de plantas de interés agronómico, entre las que se incluye la fresa (Pastrana y col. 2014). Sus síntomas incluyen enanismo, marchitez, escasa producción de raíces nuevas y ocasionalmente necrosis en corona y muerte de las plantas. Una de las principales estrategias de control consiste en la detección temprana de ese hongo en el suelo pre-plantación y en el material vegetal trasplantado anualmente en la provincia de Huelva procedente de viveros de altura.

En este trabajo, se ha desarrollado un protocolo de PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan para la detección específica y altamente sensible de *F. solani* en muestras de suelo de fincas de producción y en plantas de fresa. A su vez, se ha incorporado la detección en multiplex de un control interno positivo basado en un fragmento del genoma del fago lambda, para evitar la detección de falsos negativos. El límite de detección de *F. solani* en suelo fue de 10^2 conidias/g suelo y en planta de 50 fg ADN. Para determinar la diversidad de este patógeno se obtuvo una colección de aislados procedentes de suelo y planta de campos de producción de fresa de la provincia de Huelva y se caracterizaron morfológica, molecular y patogénicamente. Se han detectado aislados patógenos y no patógenos en suelo y material vegetal. El análisis filogenético multilocus de las regiones EF1 α , ITS y RPB2 rindió la existencia de cuatro grupos filogenéticos en la población de *F. solani* estudiada, no relacionados con su origen ni patogenicidad.

Financiación: INIA RTA20013-00062-C05-02 y fondos FEDER 2014-2020: “Programa Operativo de Crecimiento Inteligente”.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, PATOGENICA Y MOLECULAR DE *Colletotrichum acutatum*, AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS DEL ALMENDRO.

López-Moral, A.¹, Raya, M.C.¹, Lovera, M.², Luque, F.¹, Arquero, O.², Trapero, A.¹

¹Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, España. Email: trapero@uco.es

²Departamento de Fruticultura, IFAPA Centro de Córdoba, Alameda del Obispo s/n, 14071 Córdoba, España.

La Antracnosis del almendro, causada por especies fúngicas del género *Colletotrichum*, es una enfermedad en clara progresión y ampliamente distribuida a nivel mundial. Uno de los aspectos menos conocidos de la enfermedad es la identificación del patógeno. Actualmente, los aislados causantes de la Antracnosis del almendro han sido asignados al complejo de especies *C. acutatum sensu lato (s. l.)*, dentro del cual, sólo dos especies filogenéticas, *C. fiorinae* y *C. godetiae*, están asociadas a almendro. En este trabajo se ha realizado la caracterización fenotípica, patogénica y molecular de aislados de *Colletotrichum* obtenidos de frutos de almendro afectados por Antracnosis en Andalucía, así como de dos aislados procedentes de olivo para su comparación. De los diversos caracteres fenotípicos estudiados, ninguno permitió una separación clara entre grupos de aislados o especies. La inoculación de frutos separados de almendro y olivo con aislados de *Colletotrichum* procedentes de ambos huéspedes ha puesto de manifiesto diferencias de virulencia y cierto grado de especialización patogénica entre aislados. Por su parte, la caracterización molecular ha establecido una clara separación entre los aislados de *Colletotrichum* ensayados. Los aislados de olivo fueron identificados como dos especies filogenéticas, *C. godetiae* y *C. nymphaeae*, las cuales ya habían sido identificadas anteriormente en olivares de Andalucía. De los aislados de almendro también se identificaron dos especies filogenéticas, una de las cuales, *C. godetiae*, coincide con la subpoblación de colonia gris descrita en otros países. Sin embargo, la otra especie de *Colletotrichum* identificada en almendro, *C. acutatum sensu stricto*, presenta colonia rosa y ha resultado más virulenta en almendro, pero no coincide con la población de colonia rosa descrita en otros países y que fue identificada como *C. fiorinae*. Se trata, por tanto, de la identificación de una nueva especie, dentro del complejo *C. acutatum s. l.*, causante de la Antracnosis del almendro.

**CUANTIFICACIÓN DEL NIVEL DE INÓCULO AÉREO MEDIANTE qPCR
APLICADA A TRAMPAS DE ESPORAS**

Berbegal, M.¹, Arizmendi, S.¹, Català, S.¹, Vicent, A.², Mira, J.L.², Armengol, J.¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. mobermar@etsia.upv.es

² Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Moncada 46113, Valencia.

El desarrollo de modelos de predicción de riesgo de enfermedades fúngicas de dispersión aérea y la toma de decisiones relacionadas con su manejo dependen, en muchos casos, del seguimiento del nivel de inóculo presente en el aire. La cuantificación se ha basado tradicionalmente en el conteo con microscopio de esporas capturadas en trampas. El uso de técnicas moleculares supone una mejora respecto al conteo con el microscopio, ya que aporta mayor rapidez, especificidad y sensibilidad. En el presente trabajo, se describe el desarrollo de una metodología para la cuantificación mediante qPCR del nivel de inóculo aéreo, que en este caso se aplica a dos patógenos: (i) *Phaeomoniella chlamydospora*, uno de los principales hongos implicados en las enfermedades de madera en viña y, (ii) *Mycosphaerella nawae*, agente causal de la mancha foliar en caqui. En ambos casos se utilizaron trampas de esporas utilizando cintas de plástico impregnadas con silicona como soporte, a partir de las que se extrajo el ADN de los patógenos. Para la puesta a punto y validación de la metodología se utilizaron suspensiones de conidios de concentraciones conocidas, en el caso de *P. chlamydospora* y, diferentes tiempos de exposición en un túnel de viento para la liberación de ascosporas, en el caso de *M. nawae*. Los resultados obtenidos mostraron una elevada sensibilidad y especificidad de la reacción, junto con una buena correlación entre la cantidad de ADN del patógeno y el número de esporas cuantificadas con microscopio. Además, la técnica se puso en práctica en condiciones de campo utilizando trampas de esporas instaladas en un viñedo y un huerto experimental de caqui afectados. Se discuten las ventajas e inconvenientes del uso de esta metodología basándonos en los resultados obtenidos con los dos patógenos estudiados.

Financiado por MECD, Programa Campus de Excelencia Internacional y RTA2013-00004-C03-03 (INIA) fondos FEDER.

GENÓMICA COMPARATIVA Y FUNCIONAL DE TRES AISLADOS CON DIFERENTES ESTILOS DE VIDA DEL HONGO *Plectosphaerella cucumerina*

Antonio Muñoz-Barrios^{1,2}, Irene del Hierro^{1,2}, Sandra Díaz-González^{1,2}, Brisa Ramos^{1,2}, Gemma López^{1,2}, Pablo González-Melendi^{1,2}, Soledad Sacristán^{1,2} y Antonio Molina^{1,2}

¹ *Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid (UPM) - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) Campus Montegancedo UPM, 28223-Pozuelo de Alarcón (Madrid), Spain*

² *Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM, 28040-Madrid, Spain.*

antonio.munoz@upm.es

Los hongos fitopatógenos, entre los que destacan los necrótrofos, son el grupo de patógenos más importantes en cultivos, al ser causantes de la mayor parte de las pérdidas económicas en cosecha y postcosecha. La infección por hongos necrótrofos se realiza mediante sofisticados mecanismos moleculares basados en la secreción de efectores, enzimas líticas y toxinas. La identificación de dichos mecanismos determinantes en la interacción necrotrófica puede ser determinante en el desarrollo de nuevas estrategias de protección de cultivos.

El ascomiceto *Plectosphaerella cucumerina* (Lindf.) W. Grams es un patógeno presente en la rizosfera de forma ubicua que coloniza diferentes huéspedes vegetales. Se han caracterizado diferentes aislados del género *Plectosphaerella* que presentan distintas interacciones con la planta modelo *Arabidopsis thaliana* (*At*): el aislado *PcBMM* es virulento o adaptado para colonizar *At* (Col-0), mientras que el aislado *Pc2127* es avirulento o no adaptado, por lo que únicamente es capaz de colonizar mutantes de *At* defectivos en defensa. Por otro lado, al aislado *Pc0831*, obtenido como endófito de una población natural de *At*, coloniza la planta sin causar síntomas.

En este trabajo, se han secuenciado, ensamblado y comparado los genomas de estos tres aislados de *Plectosphaerella* con la finalidad de identificar patrones asociados a los diferentes tipos de interacción con la planta. Aunque los tres aislados presentan grandes similitudes en la clasificación funcional de sus familias génicas, la expresión génica *in planta* es muy diferente, lo que indica que el tipo de interacción de cada uno de los aislados viene determinada principalmente a nivel de regulación génica. Hemos caracterizado las distintas familias de genes sobreexpresadas *in planta* de manera específica en cada uno de los aislados, e identificado un grupo de posibles efectores regulados diferencialmente en *PcBMM* que podrían estar implicados en patogénesis.

ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES DE POSCOSECHA DEL NÍSPERO (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. cv. ALGERIE) EN ALICANTE

Palou, L., Sánchez-Torres, P., Montesinos-Herrero, C., Taberner, V.

Laboratori de Patologia, Centre de Tecnologia Postcollita (CTP), Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA), Apartat Oficial, 46113 Montcada, Valencia, España.
palou_llu@gva.es

España es el segundo productor mundial y el primer exportador de níspero japonés (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) para el consumo en fresco. Más del 50% del área cultivada, unas 1.300 ha, se encuentra en la provincia de Alicante, concretamente en la zona de Callosa d'en Sarrià, donde más del 95% de la producción corresponde al cultivar 'Algerie'. Esta producción se destina mayoritariamente a mercados de la Unión Europea (UE). El objetivo de este trabajo fue identificar los hongos patógenos causantes de enfermedades de poscosecha en este cultivar en nuestras condiciones ambientales. Durante dos campañas consecutivas, se utilizaron nísperos 'Algerie' de dos parcelas distintas de la zona para determinar la etiología de enfermedades producidas tanto por infecciones latentes como por infecciones de herida. Para ello, frutos desinfectados superficialmente o heridos artificialmente se mantuvieron en cámaras húmedas a 20°C hasta 5 semanas. Se determinaron también las enfermedades en nísperos manejados comercialmente (selección visual y empaque en cajas de madera acolchadas en la central hortofrutícola) y conservados a 5°C hasta 12 semanas. Actualmente, en la UE no existen tratamientos de poscosecha autorizados. Los hongos aislados se incubaron en medio patata dextrosa agar (PDA) a 25°C para su purificación y posterior identificación, tanto a nivel morfológico como molecular. En algunos casos se realizaron pruebas de patogenicidad para comprobar el cumplimiento de los postulados de Koch. Independientemente del tipo de infección y manejo, los principales hongos causantes de enfermedad fueron *Alternaria alternata* (mancha negra) y *Penicillium expansum* (podredumbre azul). Además, *Botrytis cinerea* (podredumbre gris) se aisló frecuentemente tanto de frutos heridos como conservados en frío, mientras que *Colletotrichum gloeosporioides* (antracnosis) se observó con frecuencia en frutos desinfectados superficialmente. Otros patógenos minoritarios que se encontraron como causantes de infecciones latentes, sobretudo en la zona peduncular del fruto, fueron *Pestalotiopsis clavispora* y *Diplodia seriata*.

AISLAMIENTO DE ESPECIES DE *Phytophthora* Y *Phytophythium* EN VIVEROS DE AGUACATE Y EMBALSES DE RIEGO DE LAS ISLAS CANARIAS

Rodríguez-Padrón, C.^{1,3}, Rodríguez-Pérez, A.², Siverio de la Rosa, F.³

¹ Gestión del Medio Rural de Canarias S.A.U. C/. Jesús Hernández Guzmán, 2, Planta C, 38110 Santa Cruz de Tenerife, Tenerife.

² Dpto. Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y Genética. Universidad de La Laguna. Facultad de Farmacia, 38206 La Laguna, Tenerife.

³ Dpto. Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Apdo. 60, 38200 La Laguna, Tenerife. E-mail: fsivros@gobiernodecanarias.org.

Persea americana es actualmente el cultivo subtropical más importante en las Islas Canarias. Su principal patógeno es *Phytophthora cinnamomi* que, a pesar de los esfuerzos realizados para su control, continúa siendo una limitación para este cultivo en la región. Otras especies del género *Phytophthora* responsables de la formación de chancros en tallo y de la podredumbre de raíz en aguacate son: *P. cactorum*, *P. citrophthora*, *P. heveae*, *P. mingei*, *P. multivora*, *P. nicotianae*, *P. niederhauserii* y *P. palmivora*. En este trabajo se estudió la presencia de oomicetos, especialmente especies de *Phytophthora*, en embalses de agua de riego y viveros comerciales de aguacate de las Islas Canarias. Se analizaron muestras de agua de los embalses y de plántulas de aguacate, sustratos y agua de riego de los viveros, así como muestras de suelo de las parcelas que suministraban semillas utilizadas para la propagación. Las muestras de agua se analizaron por filtración y posterior trapeo de los filtros en manzana; las de plantas mediante siembra de raíces en medio selectivo; y las de sustrato y suelo mediante trapeo con hojas de aguacate. Los aislados obtenidos fueron identificados morfológicamente y mediante el análisis de las secuencias de la región ITS. Se aislaron oomicetos en 8 de los 9 viveros muestreados durante 2013 y en 4 de los 7 viveros muestreados durante 2015. Las especies aisladas fueron *P. cinnamomi*, *P. niederhauserii*, *P. multivora*, *P. nicotianae*, *P. palmivora*, *P. lacustris* y *Pp. vexans*. Además, se aisló *P. multivora* de uno de los 20 embalses de agua de riego muestreados. Todas las especies detectadas, salvo *P. lacustris*, habían sido aisladas de cultivos de aguacate en un trabajo anterior.

Investigación financiada por el Servicio de Sanidad Vegetal del Gobierno de Canarias por medio de la empresa pública GMR Canarias en colaboración con el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, y por una Beca FPI-INIA nº 14 "Patrones de Aguacate de Raza Antillana Tolerante-Resistentes a *Phytophthora cinnamomi* Rands en el Marco de la Agricultura Sostenible" RTA2009-00157-00-00. 2010-2014.

RESÚMENES DE COMUNICACIONES PÓSTER

EVALUACIÓN DEL SISTEMA “NATUGRO™” SOBRE UNA POBLACION DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* Y SOBRE LA COSECHA DE UN CULTIVO DE TOMATE BAJO PLÁSTICO.

Galeano, M., Moreno, J., Rodriguez, M.V., Rodriguez, J., Santiago, L., Ruiz, A., Ruiz, J. A. y Belda, J.E.

Koppert España, S.L. Departamento I+D. C/ Cobre, 22-24. Polígono Industrial Ciudad del Transporte de Poniente. 04745 La Mojonera (Almería). e-mail: mgaleano@koppert.es

Durante la campaña 2014-15 se ha realizado un ensayo en un invernadero comercial de 11.600 m² en La Cañada (Almería), con suelo enarenado, riego por goteo y estructura tipo Almería (“raspa y amagado”), que presentaba antecedentes históricos de afecciones por *Meloidogyne javanica*. El cultivo fue tomate de ciclo largo (cv. Ramyle) bajo estrategia de MIP, utilizándose para el ensayo una superficie de 486 m² del total del invernadero.

El diseño experimental constaba de 4 tratamientos en el suelo: 1) Control no tratado, 2) Trichodermil, 3) NatuGro + TH y 4) NatuGro + Trichodermil, realizándose 3 repeticiones por tratamiento. Las aplicaciones se llevaron a cabo siguiendo el programa técnico establecido para el sistema NatuGro con la incorporación de los diferentes tratamientos en el sistema de riego.

Se evaluaron las poblaciones de nematodos juveniles en el suelo al inicio, mitad y final del cultivo, así como el nivel de daño y la tasa de reproducción del nematodo al final del cultivo. Como segundo objetivo, se analizó la cosecha y la calidad de frutos por tratamiento.

Los resultados han demostrado que una mejora de la biodiversidad de los microorganismos en el suelo proporcionada por la incorporación de los productos incluidos en el sistema NatuGro, incluyendo el aumento de especies de nematodos edáficos no fitoparásitos, hace que disminuya la población de *Meloidogyne javanica*, con la consiguiente reducción del nivel de daño al cultivo. El uso del sistema NatuGro (junto con la aplicación de *Trichoderma harzianum*) es una buena estrategia para el manejo de *Meloidogyne* spp. reduciendo los niveles de nematodos fitoparásitos en el suelo, y consecuentemente un menor índice de agallas en sus raíces y un aumento significativo de la cosecha.

EVALUACIÓN DE VARIOS PRODUCTOS A BASE DE QUITINA PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne javanica* (TREUB, 1885) CHITWOOD, 1949 Y SU EFECTO COMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO SOBRE PLANTAS DE TOMATE

Galeano, M., Moreno, J., Belda, J.E.

Koppert España, S.L. Departamento I+D. C/ Cobre, 22-24. Polígono Industrial Ciudad del Transporte de Poniente. 04745 La Mojonera (Almería). e-mail: mgaleano@koppert.es

Se ha llevado a cabo un ensayo de semi-campo en macetas en las instalaciones del Centro de Investigación de Koppert España, sito en Vícar (Almería), para evaluar el efecto nematicida/nematostático y de promotor del crecimiento vegetal de diferentes productos a base de quitina.

El ensayo constaba de 5 tratamientos: 1) control inoculado, 2) estándar químico, 3) producto experimental 1, 4) producto experimental 2, 5) producto experimental 3, y 6) control no inoculado. Cada tratamiento estaba formado por 10 plantas en maceta, consideradas como repeticiones. Los productos experimentales se aplicaron una sola vez mezclados con el sustrato antes del trasplante de las plántulas a las macetas. La evaluación de los resultados se realizó al final del experimento evaluando el índice de agallas, la población de nematodos y varios parámetros vegetativos.

Los resultados nematológicos han mostrado que los tres productos experimentales pueden reducir la población de vida libre de *Meloidogyne javanica* en el sustrato y uno de ellos ha conseguido reducir la reproducción del nematodo.

En relación al efecto como promotor de crecimiento, uno de los productos aumentó significativamente tanto el sistema radicular como foliar de las plantas mientras los otros dos solo aumentaron el sistema radicular. Por otra parte, el producto más ventajoso presentó también mayor diámetro y altura de las plantas respecto al resto de las plantas tratadas.

EFEECTO DE *Pisolithus arhizus* Y *Suillus luteus* EN LA ENFERMEFAD DEL CHANCRO RESINOSO EN PLÁNTULAS DE PINO MARÍTIMO

Sanchez Zabala, J.¹, Otero, M.¹, Martin-Rodrigues, N.¹, Txarterrina, K.², Azpitarte, J.³, Salcedo, I.¹, Duñabeitia, M.¹

¹UPV/EHU, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Apdo. 644, 48080 Bilbao

²BASALAN SA, Avenida Madariaga 1, Dpto. 9, 48014 Bilbao

³Confederación de Forestalistas del País Vasco, Barrio Gumuzio s/n, 48960-Galdakao, Bizkaia

Fusarium circinatum es un hongo patógeno que causa graves problemas en los viveros forestales. La infección de las plantas de pino en el semillero puede originarse por la presencia de inóculo infectivo en el sustrato, en los contenedores o en el agua de riego, siendo el sistema radical un importante punto de entrada. El control biológico por hongos ectomicorrícicos, como parte de un manejo integrado de la producción de pino en vivero, es una alternativa que ha dado buenos resultados con diferentes especies de *Fusarium*, pero no ha sido testada para *F. circinatum*. En este trabajo se evalúa la acción antagónica de cepas ectomicorrícicas de *Pisolithus arhizus* y *Suillus luteus* frente a *F. circinatum*, tanto en co-cultivo, como en simbiosis con *Pinus pinaster*. Las dos cepas ectomicorrícicas utilizadas mostraron capacidad antagónica frente al patógeno en co-cultivo. Sin embargo, el análisis microscópico de la interacción hongo ectomicorrícico-patógeno y los resultados de las pruebas in vivo mostraron diferencias entre las cepas, siendo *P. arhizus* la especie que ofrece la mayor protección al pino marítimo. Los mecanismos implicados en dicha protección están relacionados con una mejora de la nutrición, la robustez de la planta, la protección física que ofrece el manto fúngico gracias a la micorrización y la producción de metabolitos. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la utilización de ciertas especies ectomicorrícicas como una herramienta para proporcionar una mayor tolerancia a la infección por *F. circinatum*.

ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN NATURAL SOBRE LA RESISTENCIA DE *Pinus radiata* A LA INFECCIÓN POR *Fusarium circinatum* EN VIVERO

Otero, M.¹, Sanchez-Zabala, J.¹, Martin-Rodrigues, N.¹, Txarterrina, K.², Azurmendi, F.³, Salcedo, I.¹, Duñabeitia, M.¹

¹UPV/EHU, Facultad de Ciencia y Tecnología, Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Apdo. 644, 48080 Bilbao.

²BASALAN SA, Avenida Madariaga 1, Dpto. 9, 48014 Bilbao.

³Confederación de Forestalistas del País Vasco, Barrio Gumuzio S/n, 48960-Galdakao, Bizkaia.

El modelo convencional de producción de planta forestal en vivero, que se basa en la adición de elevadas cantidades de fertilizantes sintéticos y de plaguicidas químicos, está siendo cada vez más cuestionado por ser medioambientalmente insostenible. Se centra exclusivamente en nutrir a la planta para obtener el máximo crecimiento posible, olvidando la microbiota acompañante del sustrato y la rizosfera, que se ve desequilibrada en favor de ciertos grupos taxonómicos. Este método de cultivo, que ignora el resto de necesidades de la planta y del suelo, crea un ambiente propicio para la aparición de plagas y enfermedades. En este trabajo se evalúa el efecto del tipo de fertilización empleada durante la producción en vivero de *Pinus radiata* y su respuesta frente a la infección por *Fusarium circinatum*. El seguimiento de la infección en pinos no fertilizados, fertilizados de forma convencional y con fertilizante natural, muestra la existencia de diferencias en la evolución de la infección y en la sintomatología mostrada por la planta, destacando una ralentización en la evolución de la enfermedad, una menor resinación externa y una menor desestructuración del xilema y la médula en las plantas crecidas con el fertilizante natural. Asimismo, mediante la realización de ensayos *in vitro*, se ha constatado una drástica reducción en el crecimiento micelial patógeno y en la capacidad de la germinación de sus esporas, lo que sugiere que este compuesto crea un ambiente estresante para *F. circinatum*.

DESINFESTACIÓN DEL AGUA A TRAVÉS DEL RIEGO PARA PREVENIR LA INCORPORACIÓN DE *V. dahliae* AL SUELO

Gómez-Gálvez, F.J.¹, Hidalgo, J.C.¹, Hidalgo, J.J.¹, Vega, V.¹ y Rodríguez-Jurado, D.¹

¹ Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) Centro “Alameda del Obispo”, Apdo. 3092, 14080 Córdoba. fjesus.gomez.ext@juntadeandalucia.es

La eficacia supresiva mostrada *in vitro* por productos peroxigenados frente a las infestaciones del agua por *Verticillium dahliae* abre una nueva vía de actuación en el manejo integrado de la Verticilosis del Olivo en Andalucía. En este estudio, se evaluó la eficacia de la aplicación al agua de productos químicos para prevenir la incorporación de *V. dahliae* al suelo mediante el riego, y se estudió la capacidad para causar enfermedad del inóculo aportado al suelo. El suelo libre del patógeno se regó por goteo con agua infestada con conidias (experimento 1) o esclerocios (experimento 2) de *V. dahliae*, no tratada (control) y tratada químicamente (3 concentraciones x 2 productos) a través del sistema de riego durante 5 semanas en ambiente natural (Córdoba). El suelo se utilizó posteriormente como sustrato de crecimiento de olivos. Se monitorizó la densidad de inóculo del patógeno en el suelo (DI) y la Verticilosis en el plantón. La reducción de la DI varió de 87,3 a 100% y de 51,8 a 100% en el experimento 1 y 2, respectivamente, dependiendo del tratamiento químico y el número de riegos. En el experimento 1, la DI siguió un patrón acumulativo en el control mientras decreció cuando se aplicó algún tratamiento químico. En el experimento 2, la DI aumentó en el control y a la concentración más baja de ambos productos en diferente magnitud. Al final de los experimentos, no se detectó inóculo en el suelo en los tratamientos a la concentración más alta de cada producto. Solo desarrollaron síntomas los plantones en suelo control procedente del experimento 2. La incidencia de infección fue mayor en plantones sobre suelo control de ambos experimentos que en el resto de tratamientos. Los plantones en suelo regado a la mayor concentración de cada producto no fueron infectados.

Financiado por RTA2011-00019-00-00 del INIA y Transforma Olivar y Aceite del IFAPA, parcialmente financiados con recursos del FEDER. F. J. Gómez Gálvez agradece a FPI-INIA su formación.

EFECTO DE LA APLICACIÓN AL SUELO DE DESINFESTANTES QUÍMICOS SOBRE EL PATOSISTEMA OLIVO-*Verticillium dahliae*

Gómez-Gálvez, F.J.¹ y Rodríguez-Jurado, D.¹

¹ Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) Centro “Alameda del Obispo”, Apdo. 3092, 14080 Córdoba. franciscoj.gomez.galvez@juntadeandalucia.es

La desinfestación del agua de riego se postula como una práctica que podría ser incluida en el manejo integrado de la Verticilosis de Olivo para prevenir el incremento del inóculo existente en el suelo y/o reducir la Verticilosis del olivo. Existen concentraciones de productos a base de peróxido de hidrógeno en combinación con ácido peracético (px1) o amonio cuaternario (px2) eficaces para controlar a *Verticillium dahliae* en el agua cuando se aplican a pautas concretas. En este trabajo se evaluaron en condiciones controladas diferentes estrategias de aplicación al suelo (semanal, quincenal y doble aplicación mensual) de agua tratada (a las concentraciones y pautas de desinfestación previamente eficaces) con px1, px2 o no tratada (control positivo) sobre plantones de olivo ‘Picual’ (experimento 1) y ‘Arbequina’ (experimento 2) crecidos en suelo libre de patógeno (control negativo) o suelo artificialmente infestado con el patotipo defoliante de *V. dahliae* (tres aislados ensayados). El efecto de las aplicaciones al suelo se evaluó mediante la estimación de la densidad de inóculo en el suelo, el desarrollo de la enfermedad y el crecimiento del plantón. La densidad de inóculo de todos los aislados fue reducida de manera significativa en ambos experimentos dependiendo de la estrategia de aplicación del producto. En general en ambos cultivares, la densidad de inóculo fue significativamente reducida por las aplicaciones semanales y mensuales de px1 y las aplicaciones quincenales de px2. Estas estrategias redujeron además significativamente la incidencia de la enfermedad o favorecieron una menor intensidad de la enfermedad en ‘Picual’. No se observó influencia de los productos sobre la enfermedad en ‘Arbequina’. Los parámetros de crecimiento de ambos cultivares no fueron significativamente afectados por las aplicaciones de los productos.

Financiado por el proyecto RTA2011-00019-00-00 del INIA y PEI/PEI2011.1 del IFAPA, parcialmente financiados con recursos del FEDER. F. J. Gómez Gálvez agradece a FPI-INIA su formación.

TOLERANCIA DE LAS SEMILLAS IMPRIMADAS DE *Phaseolus vulgaris* L. A *Fusarium oxysporum*

JULIO CHICO-RUIZ, LISI CERNA-REBAZA,
MIGUEL BOÑON-LEYVA

Laboratorio de Fitopatología. Universidad Nacional de Trujillo-Perú

jchico22@gmail.com

RESUMEN

El frejol es una fuente de alimentación por su contenido en proteínas, vitaminas, minerales y fibra dietética, sin embargo presenta problemas de enfermedades producida por fitopatógenos de ahí la necesidad de aplicar la imprimación para inducir tolerancia a diversos hongos fitopatógenos. El objetivo fue demostrar que la imprimación de semillas de *Phaseolus vulgaris* L. var. caballero y canario, inducen tolerancia a *Fusarium oxysporum*. Se ensayaron con sales de CaCl₂, CaSO₄ y NaCl a concentraciones de 25mM, 50mM y 100mM respectivamente, en un diseño completamente al azar con tres repeticiones de 50 semillas cada una. Los resultados mostraron que la tolerancia para ambas variedades expuestas a *F. oxysporum* es inducida por CaSO₄ a 100mM, con 82% (caballero) y 92% (canario) de germinación, seguido del CaCl₂ (100mM) con un 80% para caballero y un 82% para canario. Aplicando Tukey (p<0.05), el CaSO₄, (100mM), para ambas variedades, es estadísticamente superior a las otras dos concentraciones y tratamientos. En conclusión el CaSO₄ y CaCl₂ generan tolerancia a *F. oxysporum* en ambas variedades de frejol, no es recomendable utilizar el NaCl como agente imprimante

Palabras claves: Osmocondicionamiento, *Phaseolus vulgaris*, germinación, *Fusarium oxysporum*.

ORPRAMed: UN PROYECTO EUROPEO SOBRE EL RIESGO DE INTRODUCCIÓN DE LA CANCROSIS BACTERIANA DE LOS CÍTRICOS EN EL ÁREA MEDITERRÁNEA A PARTIR DE PLANTAS RUTÁCEAS NO CÍTRICAS

Cubero, J.¹, Catara, V.², Pruvost, O.³, Licciardello, C.⁴, Timpanaro, G.², Aysan, Y.⁵, Cetinkaya-Yildiz, R.⁶, Caruso, P.⁴

¹ Instituto Nacional de Investigación y tecnología Agraria y Alimentaria – INIA, Ctra de la Coruña Km 7,5, 28040 Madrid, España. cubero@inia.es.

² Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente (Di3A), University of Catania. Italy.

³ French Agricultural Research Centre for International Development CIRAD. La Reunion, Francia.

⁴ Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria - Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee (CREA-ACM), Acireale (CT), Italia.

⁵ Plant Protection Department in Cukurova University, Adana, Turquía.

⁶ Plant Protection and plant quarantine Department in Biological Control Research Institute. Adana, Turquía.

El cultivo de los cítricos en los países del área mediterránea se encuentra amenazado por la introducción de enfermedades, principalmente a través de la importación de plantas asintomáticas. Entre los patógenos clasificados de cuarentena que afectan a los cítricos destacan *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (*Xcc*) y *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolii* (*Xfa*), causantes de la cancrrosis bacteriana de los cítricos (CBC). La cancrrosis no se encuentra presente en Europa ni en ningún país del área mediterránea, y su introducción sería devastadora para una industria que está especialmente dirigida a la producción de frutos para consumo en fresco. La EFSA (European Food Safety Authority) ha concluido que la importación de plantas asintomáticas de especies de rutáceas no cítricas, especialmente aquellas no contempladas en la directiva europea 2000/29EC, supone un riesgo de introducción de esta enfermedad. Sin embargo, la interacción de *Xcc* y *Xfa* en dichas especies no ha sido estudiada en profundidad.

El proyecto ORPRAMed (Ornamental *Rutaceae* plants risk assessment in Mediterranean) va dirigido a establecer los riesgos reales que existen de introducir CBC en el área mediterránea a través rutáceas ornamentales, mediante la generación de conocimiento en relación a la interacción de *Xcc* y *Xfa* con diferentes especies de cítricos pertenecientes a la familia *rutaceae*. En dicho proyecto, se han establecido diferentes paquetes de trabajo que incluyen estudios económicos sobre la comercialización de rutáceas no cítricas, sobre supervivencia y colonización de estas plantas por parte de *Xcc* y *Xfa* y finalmente análisis genómicos dirigidos a desentrañar mecanismos de resistencia a la enfermedad de algunas de estas especies.

Los grupos de investigación del proyecto ORPRAMed procedentes de España, Francia, Turquía e Italia tienen como objetivo incrementar el conocimiento proporcionando nuevos datos sobre la susceptibilidad de las diferentes especies rutáceas a CBC, suministrando además información sobre sus genomas. Finalmente se ha marcado como objetivo del proyecto el promover la colaboración e interacción entre los Servicios de Protección Vegetal con productores y grupos de investigación de diferentes organismos y países con la finalidad de seguir una estrategia multidisciplinar que aborde los diferentes aspectos relativos a la enfermedad y su contexto.

El proyecto en España es financiado por el INIA

(ERA67-OPRAMED-INIA) dentro de la red Arimnet 2

FUNGAL ENDOPHYTES OF *Populus alba* DECREASE DISEASE SEVERITY FROM THE SHOOT BLIGHT PATHOGEN *Venturia tremulae*

Martínez-Arias, C.¹, Macaya-Sanz, D.², Martín, J.A.²

¹ Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera, s/n, 46013 València.

² Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Montes, Forestal, y del Medio Natural. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid. juan.martin.garcia@upm.es

In nature all plants live associated with microorganisms without causing disease symptoms, collectively called the plant microbiota. Those that live symbiotically inside plant tissues are named endophytes. Several works have evidenced that this microbiota can play an important role in plant protection against pests and pathogens. Here, we test the hypothesis that *Populus alba* fungal endophytes can mitigate disease severity caused by the necrotrophic pathogen *Venturia tremulae*. This fungus damages trees of *Populus* section causing defoliation and twig dieback. Twelve endophytes were isolated from healthy *P. alba* trees and confronted *in vitro* to the pathogen. Ten endophytes significantly reduced pathogen growth ($P < 0.05$), and frequently exhibited mycoparasitism towards the pathogen. A mixed spore suspension from these ten endophytes was applied as a preventive treatment to *P. alba* seedlings growing under glasshouse conditions. Fifteen days later, the same plants received a *V. tremulae* spore suspension (E+V treatment). Three control groups of plants received either water (W), a spore suspension of endophytes (E), or a spore suspension of *V. tremulae* (V). Incidence and severity of symptoms were monitored after pathogen inoculation. Typical *Venturia* shoot blight symptoms were evident in V and E+V plants by 14 days after inoculation. However, both incidence and severity of damages were lower in E+V plants than in V plants ($P < 0.05$). In W and E plants, incipient necrotic lesions of unknown origin were detected in some plants, in less than 5% of their shoots. Reisolation of endophytes confirmed a higher endophyte frequency in E than in W plants ($P < 0.05$). The results support our initial hypothesis. A preventive treatment of poplars against shoot blight based on beneficial fungal endophytes might be useful in nurseries or young plantations where seedlings usually carry a poor endophytic flora.

EVALUACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Biscogniauxia mediterranea* Y *Fusarium moniliforme*

Santamaría, O.¹, Lledó, S.², Rodrigo, S.¹, Poblaciones, M.J.¹

¹ Instituto Universitario de Investigación de la Dehesa (INDEHESA), Universidad de Extremadura, Avenida Adolfo Suárez s/n, 06007 Badajoz, España. osantama@unex.es

² Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura, Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden-Valdesequera, Autovía A-5, km 372 - 06187 Guadajira, Badajoz, España.

Biscogniauxia mediterranea, es un hongo que causa chancro carbonoso en encinas y alcornoques, aunque también ha sido aislado en especies de pasto. *Fusarium moniliforme* es un patógeno que produce micotoxinas, que afectan negativamente a productos agrícolas, cereales y especies pratenses. Entre las medidas de control de patógenos, el uso de hongos endófitos, que son organismos que viven en el interior de los vegetales sin causarles daño aparente, se está convirtiendo en una alternativa cada vez más viable, eficaz y respetuosa con el medio ambiente. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* de filtrados producidos por varios hongos endófitos sobre el crecimiento miceliar de *B. mediterranea* y *F. moniliforme*, con el fin de analizar su eventual uso como agentes de control biológico. Además, con *F. moniliforme* se evaluó la influencia de la asociación endófito-patógeno en su patogenicidad en plantas de la especie pratense *Lolium rigidum*, y sobre la producción de materia seca y calidad del forraje al ser ambos inoculados en condiciones de invernadero. Los resultados mostraron que *in vitro* el crecimiento de *F. moniliforme* fue limitado por los endófitos *Sordaria fimicola* y *Paecilomyces variotii* y el de *B. mediterranea* por los endófitos *P. variotii*, *Trichoderma gamsii* y *Penicillium chrysogenum*, en porcentajes que iban desde un 12% a algo más del 50%. En planta, dos de los endófitos, *S. fimicola* y *P. variotii*, redujeron la severidad de *F. moniliforme* al ser inoculados junto a éste. Con respecto a los parámetros productivos del forraje y de su calidad bromatológica, no se obtuvieron resultados concluyentes. Aunque este estudio se puede considerar como preliminar, se puede concluir que algunos hongos endófitos muestran actividad antagonista frente a ciertos patógenos, que podría ser utilizada para su control.

CONTROL QUÍMICO DE LA TELARAÑA DEL CHAMPIÑÓN CAUSADA POR *Cladobotryum mycophilum*Carrasco, J.¹, Navarro, M.J.¹, Santos, M.², Gea, F.J.¹¹Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), E-16220 Quintanar del Rey, Cuenca, España.²Departamento de Producción Vegetal. Escuela Politécnica Superior, Universidad de Almería, Almería, España.

El objetivo de este estudio era evaluar la sensibilidad *in vitro* de aislados de *Cladobotryum mycophilum* procedentes de cultivos de champiñón españoles frente a los fungicidas autorizados en España para su control (clortalonil, metrafenona, procloraz). También se ha valorado la eficacia de estos fungicidas para controlar la enfermedad de la telaraña en cultivos de champiñón artificialmente infectados con *C. mycophilum*. Se realizaron ensayos de inhibición del crecimiento micelial sobre medios de cultivo con fungicida con el fin de calcular la dosis efectiva media (ED_{50}), tanto para *C. mycophilum* como para *Agaricus bisporus*. *C. mycophilum* mostró una elevada sensibilidad hacia metrafenona ($ED_{50} = 0,025 \mu\text{g mL}^{-1}$) y procloraz ($ED_{50} = 0,053 \mu\text{g mL}^{-1}$), mientras que clortalonil ($ED_{50} = 0,542 \mu\text{g mL}^{-1}$) fue menos efectivo. Por otro lado, los índices de selectividad ($IS = ED_{50} C. mycophilum / ED_{50} A. bisporus$) calculados para cada fungicida, mostraron que clortalonil era el más tóxico para el micelio de champiñón ($IS = 0,38$), mientras que metrafenona resultó ser el fungicida más selectivo ($IS = 0,00001$). Se realizaron dos ciclos de cultivo de champiñón infectados artificialmente con una suspensión conidial de *C. mycophilum* (10^6 conidios m^{-2}). Se aplicaron cuatro tratamientos: IP (procloraz, $0,5 \text{ g m}^{-2}$), IP2 (procloraz, 1 g m^{-2}), IM (metrafenona, 1 mL m^{-2}) e ICTL (clortalonil, 2 mL m^{-2}), y dos controles: IC (control inoculado sin fungicida) y C (control con agua). Se valoró la cosecha de champiñón de cada tratamiento y la superficie de cultivo colonizada por el patógeno. El tratamiento con metrafenona fue el más efectivo para controlar la telaraña, mientras que clortalonil mostró una eficacia menor.

CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Cladobotryum mycophilum*, AGENTE CAUSAL DE LA TELARAÑA EN CULTIVOS DE SETA DE CARDO (*Pleurotus eryngii*)

Gea, F.J.¹, Carrasco, J.¹, Suz, L.M.², Lainez, M.C.³, Navarro, M.J.¹

¹Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), E-16220 Quintanar del Rey, Cuenca, España.

²Comparative Plant and Fungal Biology, Royal Botanic Gardens Kew, TW9 3DS, Richmond Surrey, UK.

³IES Amparo Sanz, Albacete, España.

En el año 2010 se detectó la presencia de la enfermedad de la telaraña en cultivos de seta de cardo en España. La identificación morfológica y genética de aislados procedentes de cultivos infectados concluyó que el agente causal era el hongo micoparásito *Cladobotryum mycophilum*. Se realizaron ensayos de patogenicidad sobre cuerpos fructíferos, utilizando suspensiones conidiales de tres aislados de *C. mycophilum*. El agente causal se reaisló en el 80 y 85% de los cuerpos fructíferos inoculados internamente, y en el 15 y 40% de los que se inocularon en la superficie del sombrero. Estos resultados indican una cierta resistencia de los tejidos de la superficie del sombrero de *P. eryngii* a la colonización por parte del micelio de *C. mycophilum*. También se han realizado dos ciclos de cultivo de *P. eryngii* infectados artificialmente con *C. mycophilum*, con el fin de valorar la patogenicidad del agente causal sobre dos mezclas de cobertura distintas. Al final del ciclo de cultivo, entre el 50-60 % de las bolsas de sustrato inoculadas y cubiertas con suelo mineral y entre el 20-33 % de las bolsas de sustrato inoculadas y cubiertas con turba negra mostraron síntomas de la enfermedad de la telaraña. Esta diferencia, en cuanto a la incidencia de la enfermedad y su agresividad, puede ser parcialmente explicada por la diferente conductividad eléctrica de los materiales de cobertura utilizados. También se ha valorado la sensibilidad *in vitro* de diez aislados de *C. mycophilum* y un micelio comercial de *P. eryngii* frente a cuatro fungicidas (clortalonil, procloraz-Mn, tiabendazol y metil-tiofanato). Los fungicidas más efectivos para inhibir el crecimiento miceliar *in vitro* de *C. mycophilum* fueron procloraz-Mn y clortalonil. Procloraz-Mn también fue el fungicida más selectivo entre *P. eryngii* y *C. mycophilum*, y clortalonil fue el fungicida más tóxico frente al micelio de *P. eryngii*.

COMPATIBILIDAD Y EFICACIA DEL USO COMBINADO DE LOS BIOFUNGICIDA *Bacillus subtilis* Y *Penicillium frequentans* PARA SU APLICACIÓN EN EL CONTROL INTEGRADO DE LA PODREDUMBRE PARDA DE FRUTALES DE HUESO.

¹Guijarro, B., ¹Larena, I., ²Teixido, N., ¹Melgarejo, P., ¹De Cal, A.

¹Departamento de Protección Vegetal, subunidad Hongos Fitopatógenos. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera de La Coruña Km 7,5, 28045, Madrid. E-mail: cal@inia.es

² Departamento de Patología postcosecha (IRTA), Parc Científic i Tecnològic de Gardeny, FRUITCENTRE, 25003 Lleida, Catalonia.

La aplicación combinada de agentes de control biológico con distinto modo de acción, como bacterias y hongos, puede ampliar su efecto en el control de enfermedades de plantas a lo largo de todo el cultivo. En el estudio del control biológico de la podredumbre parda (PP) del melocotonero, se están ensayando dos tipos distintos microorganismos, *Penicillium frequentans* (Pf909) y *Bacillus subtilis* (CPA8), con modos de acción diferentes y nichos ecológicos complementarios, cuya actividad frente a los agentes causantes de podredumbre parda en frutales de hueso ha sido demostrada previamente. El análisis de la compatibilidad y momento óptimo de aplicación de cada uno de los agentes de control biológico Pf909 y CPA8 es esencial para obtener máxima eficacia en los tratamientos de campo y aprovechar sinergias y condiciones favorables para la actuación de cada uno.

Tras una selección inicial de las concentraciones de antagonistas en cada medio líquido de cultivo, 10^8 ufc/ml CPA8 y 10^7 conidias/ml Pf909, se pasó a un análisis más detallado de la compatibilidad a dosis seleccionada en medio de cultivo extracto de melocotón y a tres diferentes temperaturas con 8 combinaciones de tratamientos: CPA-8 (0h), CPA-8 (18h), Pf909 (0h), Pf909 (18h), CPA-8(18h)+ Pf909 (0h), CPA-8 (18h)+ Pf909 (18h), CPA-8 (0h)+ Pf909 (0h), CPA-8 (0h)+ Pf909 (18h). Estas combinaciones se ensayaron en fruta inoculadas artificialmente con *Monilinia fructicola*, donde se evaluó la eficacia en el control de la PP con relación a aplicaciones individuales de estos mismos microorganismos.

CPA8 inhibe el crecimiento de PF909 cuando coexisten en gota de extracto de melocotón.

Investigación financiada por 612713 BIOCOTES fondos FEDER

CARACTERIZACIÓN DE LAS CURVAS DOSIS-RESPUESTA***P. frequentans*/Monilinia spp: EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN PATÓGENO/ANTAGONISTA EN LA INCIDENCIA DE ENFERMEDAD**

Guijarro, B., Hernández, L., ¹Larena, Melgarejo, P., De Cal, A.

Departamento de Protección Vegetal, subunidad Hongos Fitopatógenos. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera de La Coruña Km 7,5, 28045, Madrid. E-mail: cal@inia.es

Las aplicaciones de agentes de control biológico (BCA) que actúan por competencia frente al patógeno, requieren incorporaciones de antagonistas de forma masiva para asegurar el control de la enfermedad, ya que el grado de reducción de ésta, está íntimamente relacionado con la cantidad de antagonista en contacto directo con el patógeno. Estudios previos en los que se realizaron aplicaciones del agente de biocontrol *P. frequentans* (Pf909) para el control de la podredumbre parda en campos comerciales de melocotoneros, muestran que los tratamientos periódicos a lo largo del desarrollo del fruto, incrementan el tamaño de las poblaciones de Pf909 en la superficie de la planta de forma exponencial. Estas formulaciones reducen la densidad del inoculo de *Monilinia* spp. en superficie y la incidencia de la enfermedad en postcosecha cuando esta no supera el 50%. El conocimiento de las relaciones de inoculo patógeno-antagonista nos ayudará a determinar la densidad de población de antagonista requerida para alcanzar control de la enfermedad.

Se realizaron ensayos *in vivo* en cerezas inoculadas con diferentes concentraciones de *Monilinia fructicola* (10^2 - 10^4 conidias/ml) y tratadas con *P. frequentans* (10^4 - 10^7 conidias/ml). Se obtuvieron las curvas dosis-respuesta de Pf909/3C para evaluar el efecto de la concentración en la incidencia de enfermedad: eficacia relativa antagonista/patógeno, EC_{50} antagonista y ratios EC_{50} antagonista vs patógeno.

Los ensayos de concentración de inoculo muestran que Pf909 es capaz de controlar *Monilinia fructicola* con densidades de antagonista entre 10^4 y 10^7 conidia/ml bajo densidades moderadas de patógeno entre 10^2 y 10^3 conidia ml^{-1} , que representa el rango de densidad de inoculo observado en huertos comerciales infectados. Pf909 es efectivo en el control de la podredumbre parda del melocotonero por su capacidad de colonizar los tejidos sanos del fruto reduciendo el inoculo de patógeno, siempre que la concentración de antagonista sea superior a la del patógeno.

Investigación financiada por 612713 BIOCOTES fondos FEDER

MEJORA DE LA EFICACIA EN EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE PARDA DE FRUTALES DE HUESO DEL BIOFUNGICIDA Pf909 MEDIANTE LA INCORPORACION DE AGENTES TENSOACTIVOS, ADHERENTES Y MOJANES.

Guijarro, B., Robles, L., Larena, I., Melgarejo, P., De Cal, A.

Departamento de Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera de La Coruña Km 7,5, 28040, Madrid. E-mail: cal@inia.es

Los surfactantes y tensoactivos, son los aditivos más empleados en las formulaciones de biofungicidas para tratamientos aéreos de hongos. Son considerados esenciales para conseguir una distribución uniforme del agente de biocontrol en superficie y alcanzar una cobertura total, esencial en tratamientos biológicos con antagonistas cuyo modo de acción es la competencia y/o espacio. El objetivo de este estudio es mejorar la eficacia de las formulaciones de Pf909 mediante la incorporación de aditivos naturales que favorezcan la cobertura del fruto, así como la permanencia de las conidias en superficie.

Se seleccionan varios productos empleados como coadyuvantes naturales de microorganismos en el control biológico. El proceso de evaluación consta de tres pasos, (1) Análisis de toxicidad de los productos frente al agente de biocontrol y el patógeno, (2) ensayo de eficacia como mejoradores de la permanencia de las conidias en la superficie del fruto, y el recubrimiento de la superficie tratada. (3) Análisis de eficacia en el control de la podredumbre parda.

La evaluación de toxicidad se lleva a cabo mediante estimación del crecimiento miceliar en medio nutritivo czapeck de las conidias de *P. frequentans* y *Monilinia fructicola* con diferentes concentraciones de coadyuvantes. La incubación de las suspensiones de esporas se realiza en agitación y oscuridad a 22°C, tomándose medidas diarias de absorbancia hasta las 72h. Una vez elegidos los productos y concentraciones inocuas para ambos microorganismos, se evalúan aquellas que mejoran la cobertura y permanencia de Pf909 en fruto. Las diferentes disoluciones de coadyuvantes se añaden a las suspensiones de conidias secas de Pf909 (10⁶ conidias/ml) o formulados de éstas y se aplican mediante pulverización sobre la superficie de frutos estériles de dos formas: (1) Pulverización lateral, donde se moja una única cara del fruto, y (2) pulverización frontal, en la que se moja todo el fruto. El recuento de las conidias (UFC) que cubren la superficie de los frutos se estima por el lavado del fruto. Los aditivos que mejoran significativamente el número de conidias por superficie de fruto respecto al modo de aplicación y el control sin aditivos, se emplearán en los ensayos de eficacia (Guijarro *et al.* 2006) en cinco variedades de frutales de hueso (ciruela, melocotón, nectarina, cereza y albaricoque).

Investigación financiada por 612713 BIOCOTES fondos FEDER

ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA PODREDUMBRE PARDA CAUSADA POR *Monilinia fructicola* EN INFECCIONES VISIBLES Y LATENTES

García-Benítez C.¹, Melgarejo P.¹, De Cal A.¹, Fontaniella B.²

¹ INIA, Departamento de Protección Vegetal. Carretera de La Coruña km 7,5. 28040 Madrid. cal@inia.es

² Departamento de Biología Vegetal I, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid.

Monilinia fructicola causa la podredumbre parda en fruta de hueso junto con *M. fructigena* y *M. laxa*. En condiciones óptimas *M. fructicola* infecta los frutos penetrando a través de la epidermis directamente, por aperturas naturales o heridas, y desarrollándose en el interior de la fruta provocando la podredumbre de la misma. Si durante la infección del patógeno se dan condiciones desfavorables, éste puede permanecer latente y la fruta no presenta los síntomas característicos de la enfermedad.

El desarrollo de las infecciones latentes en la fruta es poco conocido, por ello, en este trabajo se utilizaron técnicas histológicas y de microscopía (tanto de campo claro como microscopía electrónica de transmisión) para estudiar y comparar el desarrollo de infecciones visibles y latentes causadas por *M. fructicola* en nectarinas. En microscopía de campo claro se realizó una tinción diferencial con Verde rápido y Rojo de Safranina para diferenciar las paredes vegetales y las células del hongo.

Durante el proceso de infección en condiciones favorables para la misma (25 °C y 100% de humedad relativa), las hifas de *M. fructicola* penetraron a través de estomas colonizando primero las células de la epidermis de forma intercelular y luego intracelularmente. En las primeras 24 horas de incubación se produce un avance lateral de las hifas por la epidermis y a partir de las 24 horas de incubación continua dicho avance pero también se produce una colonización hacia el interior del fruto causando el colapso de las células de la epidermis y el mesocarpo y formando cavidades lisogénicas. Tras una incubación de 72 horas *M. fructicola* degrada la epidermis y la cutícula y comienza su esporulación hacia el exterior del fruto. En el microscopio electrónico de transmisión se observó también a las 24 horas de incubación, la degradación parcial de la cutícula de nectarina y de las paredes celulares de la epidermis; y la degradación de los orgánulos citoplasmáticos de las células epidérmicas e hipodérmicas tras 72 horas de incubación. Sin embargo, en condiciones desfavorables para la infección del patógeno, y tras más de 10 días de incubación, se comprobó que las infecciones latentes de *M. fructicola* constaban de hifas subcuticulares de *M. fructicola* que sólo colonizan la epidermis de forma intercelular muy lentamente.

TASA DE ACTIVACIÓN DE LAS INFECCIONES LATENTES DE *Monilinia* spp. EN NECTARINA DURANTE EL PERIODO DE POST-COSECHA.

García-Benítez C.¹, Usall J.², Melgarejo P.¹, De Cal A.¹

¹ INIA, Departamento de Protección Vegetal. Carretera de La Coruña km 7,5. 28040 Madrid. cal@inia.es

² IRTA, Postcollita-XaRTA. Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida. Parc de Gardeny, edifici Fruitcentre, 25003 Lleida.

La podredumbre parda causada por *Monilinia* spp. es una enfermedad fúngica con importantes repercusiones económicas en la fruta de hueso. Tras la infección de flores o frutos y si las condiciones no son favorables para su desarrollo, *Monilinia* puede permanecer en estado de latencia a lo largo del cultivo e incluso después de la recolección. El objetivo de este trabajo es analizar el desarrollo de la enfermedad en fruta de hueso durante el periodo de en una planta procesamiento y empaquetamiento, para determinar los procesos que influyen en la activación de las infecciones latentes.

Para ello se recolectaron durante tres años consecutivos 600 nectarinas por año, del mismo origen y variedad. La fruta se desinfecta superficialmente y después se congela durante 48h a -20°C para dañar la epidermis y facilitar la aparición de infecciones latentes. Se organizaron lotes la fruta de forma aleatoria tras la congelación. Cada lote paso por una de las distintas combinaciones de post-cosecha: almacenamiento en frío a 4°C antes del volcado (0, 1 o 3 días), volcado en agua+lejía o en seco, confección a 15 o 25°C (1-6 horas), almacenamiento en frío a 4°C tras la confección (0, 3 o 10 días), y por último expedición y venta 5 días a 25°C. Se evaluó la incidencia de infecciones latentes y las especies causantes de las mismas tras cada una de las combinaciones de postcosecha descritas. Los resultados demuestran que la tasa de activación de infecciones latentes se reduce por el volcado de la fruta en agua+lejía y el manejo de la fruta en condiciones de baja humedad relativa. Sin embargo, la activación de infecciones latentes aumenta con el número de días del periodo de post-cosecha, sin que intervenga en éste las horas y temperatura del periodo de confección.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2014-55287-C02-01 y ERA37-DIMO

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE *Fusarium solani* PROCEDENTES DE PLANTAS Y SUELOS DE VIVEROS DE FRESA

Villarino M., Castillo, R., Larena, I., Perera, A., San Juan, J., Melgarejo P., De Cal A.

INIA, Departamento de Protección Vegetal. Carretera de La Coruña km 7,5. 28040 Madrid. cal@inia.es

Fusarium solani es un hongo fitopatógeno, habitual del suelo, y oportunista en humanos y animales. En España, *F. solani* se había descrito como patógeno de guisante, judía, espárrago, ajo, calabaza, calabacín y sandías injertadas. Recientemente también ha sido citado como patógeno causante de podredumbre de cuello en las plantas de fresa de campos de producción de fruta y en viveros de altura, donde la población de *Fusarium* spp en el suelo parece haber aumentado tras la retirada del bromuro de metilo. La caracterización de los aislados de *F. solani* que infectan a fresa y el análisis de la variabilidad genética y morfológica de los mismos nos permitirá conocer si los distintos orígenes filogenéticos pueden estar relacionados con su origen, sensibilidad a productos fitosanitarios o su habilidad para propagarse como patógeno en el cultivo de la fresa

Para ello se aislaron e identificaron aislados de *F. solani* mediante PCR específica desde plantas sintomáticas y suelos de viveros de altura. Determinándose la frecuencia de aislamiento por parcela. Posteriormente se procedió a la caracterización morfológica y patogénica de dichos aislados de *F. solani* y se determinó su tolerancia a 1,3D, metamsodio, dazomet y cloropicrina, productos alternativos al bromuro de metilo y actualmente en uso en el proceso de desinfección de suelos en viveros de fresa. Se estudió en los aislados: el color del anverso y reverso de las colonias en PDA después de 10 días de incubación y se determinó la tasa de crecimiento a lo largo de dicho periodo. Se realizaron observaciones al microscopio óptico de: monofialidas, macroconidia (forma, septas, célula basal y apical), microconidia (forma, agrupación, abundancia) y clamidosporas (forma, agrupación). Las pruebas de patogenicidad se realizaron en plantas de fresa 'Fortuna' de categoría F1. La inoculación se llevó a cabo mediante inmersión de las raíces y coronas durante 30 minutos en una suspensión de microconidias en agua estéril (10^6 microconidias/ml), de cada uno de los aislados de *F. solani*. Las microconidias se producían en Czapek-agar y utilizaban 8-10 plantas/aislado, y los controles constaron del mismo número de plantas cuyas raíces y coronas se sumergirán en agua destilada estéril. La incubación se llevó a cabo en una cámara de ambiente controlado ajustada a 25/18°C (día/noche), 70% de HR y un fotoperiodo de 16 h. Durante 8-12 semanas se evaluó la incidencia de la enfermedad y se comprobó al final del ensayo la presencia del patógeno sobre el tejido enfermo. Se detecta una gran variabilidad en la morfología y tamaño de colonias, macroconidias, microconidias, clamidosporas y fialidas de los aislados analizados. También fue muy variable el grado de agresividad mostrada por los aislados sobre plantas de fresa 'Fortuna'. Se discute el análisis de variabilidad de las secuencias parciales de tres genes (1 α EF- α , LSU, ITS) de cada uno de los aislados de *F. solani*.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos RTA2013-00062-C05-01

LATE WILT OF MAIZE AS AFFECTED BY IRRIGATION MANAGEMENT, AND TISSUE EFFECT OF THE CAUSAL FUNGUS *Harpophora maydis*

Ortiz-Bustos, C.M.¹, López-Bernal, A.², Testi, L.², Alcántara, E.³ and Molinero-Ruiz, L.¹

¹ Department of Crop Protection, Institute for Sustainable Agriculture, CSIC, Alameda del Obispo s/n, 14004 Cordoba, Spain. leire.molinero@csic.es

² Department of Agronomy, Institute for Sustainable Agriculture, CSIC, Alameda del Obispo s/n, 14004 Cordoba, Spain.

³ Department of Agronomy, ETSIAM, University of Cordoba, Campus Rabanales. 14071, Cordoba, Spain

Late wilt, caused by the soilborne fungus *Harpophora maydis*, is an emerging disease of maize in Mediterranean growing areas. It is characterized by sudden wilting of the plants during or soon after flowering. Although the most effective control of late wilt is achieved with tolerant germplasm, the occurrence of the disease and progress of symptoms are highly dependent on environmental conditions. The objectives of this work were to: a) assess the effect of irrigation management on the appearance of symptoms and on the disease severity, and b) monitor alterations in the stem tissues through analyses of microscopy images. Maize susceptible plants were grown in pots under shade-house conditions for the whole growing season in a completely randomised factorial experiment with two factors: irrigation and inoculation. Two irrigation levels were established: optimal [120% maximum evapotranspiration (ET), determined by differential weighting of well irrigated plants in two consecutive days every week] and deficit irrigation (50% maximum ET). Half of the plants in each irrigation level were inoculated and the other half were not (controls). A total of 24 plants were used (4 treatments and 6 replications). Late wilt and growth variables were assessed over time. Transversal sections of stems of inoculated and control plants under deficit irrigation were studied under the microscope and analysed with Image J software. Significant differences of disease severity between inoculated and control plants occurred under both irrigation treatments, these differences being markedly higher in the case of deficit irrigation. Growth and harvest index were also significantly reduced in inoculated plants, but only under deficit irrigation. Concerning the evolution of leaf area, the lowest values were obtained under deficit irrigation (irrespective of the inoculation treatment), followed by inoculated and control optimally irrigated plants, respectively. These results show that water deficit increases the disease effects and should be avoided under field conditions. Microscopic analysis of stems from plants with symptoms of wilting revealed no alterations in the xylem vessels, such as the characteristic occlusions observed in the case of some vascular diseases, but an alteration of the parenchyma cells surrounding the vascular bundle that appeared darker, and some abnormally red dark coloured cell walls in the phloem.

IDENTIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS CAUSANTES DE LA PODREDUMBRE PARDA EN MELOCOTÓN: ANÁLISIS DEL SECRETOMA DE *Monilinia* spp.

Rodriguez-Pires, S.¹, Espeso, E.A.², Melgarejo, P.¹, De Cal, A.¹

¹ Departamento de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Carretera de La Coruña km 7, 28040 Madrid, España. cal@inia.es

² Departamento de Biología Celular y Molecular (CIB-CSIC), C/Ramiro de Maeztu 9, 28040. Madrid.

La podredumbre parda de fruta de hueso causada por *Monilinia* spp. produce importantes pérdidas tanto en precosecha como en postcosecha. Hasta 2006 las especies patógenas causantes de la enfermedad en España eran *Monilinia laxa* (Aderhold & Ruhland) Honey con una prevalencia del 85-90% y *Monilinia fructigena* Honey ex Whetzel del 10-15%. En 2006 se detecta una tercera especie, *Monilinia fructicola* (Winter) Honey, en huertos de melocotonero en el Valle del Ebro. Desde este momento, *M. fructicola* parece haber desplazado a la especie minoritaria *M. fructigena* y coexiste por el momento a la misma frecuencia con *M. laxa*. Dentro de los mecanismos de patogénesis de las distintas especies de *Monilinia* se encuentra su capacidad de producción de enzimas degradativas. Por ello se ha iniciado la identificación de las enzimas del patógeno responsables de la degradación de los tejidos del fruto, obteniendo y comparando su secretoma.

Para ello se seleccionaron tres aislados de *M. fructicola* (38C, 1C y 39C) y dos de *M. laxa* (8L y 33L), con diferentes grados de agresividad sobre fruta de hueso. Se comparó su actividad proteolítica, por su crecimiento y halos de hidrolisis producidos en medios de cultivo sólido suplementados con leche y distintas fuentes de nitrógeno. Tres placas por medio de cultivo y aislado fueron inoculadas con una suspensión de 10^4 conidias en agar-agua. Por otra parte se inocularon tres matraces con medio líquido que contenía 1% liofilizado de melocotón con 10^6 conidia/ml de cada aislado. Los matraces se incubaron en agitación 120 rpm a 22°C 7 días. Se precipitaron con ácido tricloroacético las proteínas secretadas por los diferentes aislados previa separación del micelio. Los extractos proteicos obtenidos se solubilizan en tampón de ruptura para su análisis en geles de acrilamida y posterior envío al servicio de proteómica del CIB-CSIC. Se identifican distintas actividades proteolíticas según la agresividad de los aislados y se discuten los resultados del secretoma.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2014-55287-C02-01

COMPOST DE ALPERUJO Y TRICHODERMA EN EL SUSTRATO DE CULTIVO MEJORAN LA SALUD DE LA PLANTA Y LA RESISTENCIA FRENTE A *Botrytis cinerea*

Fernández, E.¹, Trillas, I.¹, Segarra, G.¹

¹ Facultat de Biologia, Secció Fisiologia Vegetal, Universitat de Barcelona, Avinguda Diagonal 643, 08028 Barcelona, España. efernago13@gmail.com

Existe una amplia documentación sobre la supresividad natural de ciertos compost como sustrato de cultivo y de microorganismos agentes de control biológico (ACB) frente a patógenos edáficos. En menor medida ha sido estudiada la inducción de resistencia por composts y no todos los ACB pueden inducir en planta estas respuestas frente patógenos foliares. Los objetivos de este estudio son: i) evaluar el papel de compost maduro de alperujo (CA) y del ACB *Trichoderma asperellum*, cepa T34 (T34) en el sustrato de cultivo (perlita) en la reducción de la enfermedad causada por *Botrytis cinerea* en plantas de tomate, ii) evaluar si la inducción de resistencia desencadenada por CA y T34 implica un coste en el crecimiento y en el rendimiento fisiológico de las plantas. Los resultados obtenidos mostraron una reducción significativa de la enfermedad (área bajo la curva), siendo el CA el sustrato más supresivo, seguido de la perlita con T34, mientras que la perlita fue el más conductor. Las plantas cultivadas en CA y en perlita con T34 mostraron un mejor crecimiento (biomasa y altura) que las crecidas en perlita. Los parámetros fisiológicos (contenido hídrico relativo, relación parte subterránea/ parte aérea, isótopos estables de carbono $-^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - y fluorescencia de las clorofilas) mostraron ausencia de estrés abiótico en las plantas crecidas en perlita con T34 y en perlita. En cambio, las plantas crecidas en compost mostraron un ligero pero beneficioso estrés (eustrés) que afectó positivamente a su crecimiento. En conclusión, el CA y T34 tienen un papel relevante en la salud y protección de las plantas de tomate frente a *B. cinerea* que no implica un coste en el crecimiento ni en el rendimiento fisiológico de las plantas.

CARACTERIZACIÓN Y PATOGENICIDAD DE ESPECIES DE *Botryosphaeriaceae* ASOCIADAS A LA SECA DE RAMAS Y MUERTE DE ALMENDROS EN LA ISLA DE MALLORCA

Olmo, D.¹, León, M.², Armengol, J.², Gramaje, D.³

¹ Laboratorio de Sanidad Vegetal, Serveis de Millora Agrària i Pesquera-Conselleria de Medi Ambient, Agricultura i Pesca, C/Eusebi Estada 145, 07009 Palma de Mallorca, Islas Baleares, España.

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

³ Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Consejo Superior de Investigaciones Científicas - Universidad de la Rioja - Gobierno de La Rioja, Ctra. LO-20 Salida 13, Finca La Grajera, 26071 Logroño. david.gramaje@icvv.es

Prospecciones realizadas durante seis años consecutivos, entre 2009 y 2014, en 31 parcelas de almendros que mostraban síntomas externos de brotaciones deficientes, hojas cloróticas, marchitez generalizada, seca de ramas y muerte de árboles enteros, mostraron la prevalencia de hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae, asociados a estos síntomas en todas las zonas de cultivo de la isla de Mallorca. Estos hongos son patógenos comunes, descritos como agentes causales de decaimiento en muchos cultivos leñosos. En este estudio, se caracterizaron 45 aislados de Botryosphaeriaceae obtenidos de almendro, en base a características fenotípicas (morfología de las colonias y de la esporulación, y crecimiento a diferentes temperaturas) y moleculares (amplificación por PCR de las regiones ITS del ADN ribosómico y del gen del factor de elongación 1- α , y su secuenciación). Se identificaron cinco especies: *Diplodia olivarum*, *D. seriata*, *Neofusicoccum luteum*, *N. mediterraneum* y *N. parvum*. Además, durante dos años consecutivos se realizaron ensayos de patogenicidad en condiciones de campo con aislados representativos de estas especies sobre cuatro cultivares de almendro, seleccionadas entre las más frecuentes en Mallorca: Ferragnes, Jordi, Pons y Vivot. Los resultados confirmaron la patogenicidad a almendro de las cinco especies fúngicas, que causaron chancros y decaimiento de ramas, siendo las especies pertenecientes al género *Neofusicoccum* más virulentas que las especies de *Diplodia*.

PATHOGENICITY AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF AN INTERNATIONAL COLLECTION OF *Verticillium dahliae*, PATHOGEN OF SUNFLOWER

González-Fernández, S.¹, Martín-Sanz, A.², Egea, Leticia A.¹, Hernandez, P. ¹, Molinero-Ruiz, M.L.¹

¹ Institute for Sustainable Agriculture, CSIC, Alameda del Obispo s/n, 14004 Cordoba, Spain. leire.molinero@csic.es

² Pioneer Hi-Bred International, Inc., Campus Dupont – Pioneer, Ctra. Sevilla-Cazalla (C-433) km 4.6, 41309 La Rinconada, Spain.

Verticillium wilt, caused by the soilborne fungus *Verticillium dahliae*, is one of the most important diseases in the world, causing high economic losses in crops such as artichoke, olive tree, cotton, sunflower, potato, tomato, etc. Since the disease is genetically controlled, knowing the virulence and genetic diversity of the pathogen are key factors to increase the effectiveness of control measures. Both have been the objectives of this study. An international collection of seven *V. dahliae* isolates from sunflower was pathogenically characterized in an experiment under greenhouse conditions. Eight sunflower genotypes were inoculated with the fungal isolates and their virulence was determined for eight weeks. The molecular characterization of 13 isolates of *V. dahliae* from sunflower and from olive tree was carried out using molecular markers generated by five microsatellite primers. Concerning the study of virulence, significant differences of disease were found for isolates, genotypes, and most interestingly, for their interaction. Our results show that, although all the isolates caused different symptoms severity in the plants, certain genotypes of sunflower were less susceptible to the disease than others. In addition, the new race of *V. dahliae* recently reported in Spain was also identified in France and in Rumania. On the other hand, molecular differences between isolates of *V. dahliae* were related to the host (sunflower or olive tree) and, within those from sunflower, to geographical origin, as reported for other pathogens of this crop.

CONSTRUCCIÓN DE UNA COLECCIÓN DE CEPAS DE *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ASOCIADAS A MANGO PARA SU USO EN ESTUDIOS COMPARATIVOS

Aprile F., Arrebola E., Cazorla F.M., De Vicente A.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga.
E-mail: aprile@uma.es.

La necrosis apical es una enfermedad que afecta a las principales áreas de cultivo de mango de clima mediterráneo, y cuyo agente causal es *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss). Se han descrito diferentes genes implicados en el desarrollo de los síntomas de la enfermedad, así como en aumentar el *fitness* epifítico de la bacteria; como la producción de mangotoxina, o la resistencia al cobre respectivamente. En estudios previos mediante análisis filogenéticos, se han agrupado todas las cepas de Pss aisladas de mango y productoras de mangotoxina en el filotipo I. El objetivo de este trabajo es aislar cepas de Pss de árboles de mango de las distintas zonas de estudio (España, Portugal, Italia, Israel y Australia), para así poder abordar un análisis comparativo de las cepas de Pss aisladas antes del año 2000 y disponibles en nuestro laboratorio, con los nuevos aislamientos (2016-2017). Tras proceder a la identificación de las cepas, se caracterizarán las mismas mediante diferentes pruebas fenotípicas y genotípicas (producción de mangotoxina, resistencia al cobre, detección de genes específicos por PCR, etc).

Este trabajo ha sido financiado por ayudas de la Consejería de Economía, Innovación y Ciencia, Junta de Andalucía (P12-AGR-1473), cofinanciados con fondos FEDER (EU). F. Aprile está siendo financiada con una ayuda del programa FPI de Excelencia de la Junta de Andalucía.

COST ACTION FA1407: APPLICATION OF NGS FOR THE STUDY AND DIAGNOSIS OF PLANT VIRAL DISEASES IN AGRICULTURE

Olmos, A.¹, Ruiz-García, A.B.¹, Minafra, A.², Ravnikar, M.³, van der Vlugt, R.⁴, Varveri, C.⁵, Wetzels, T.⁶, Massart, S.⁷

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, 46113 Moncada, Valencia, Spain.

² Institute for the Sustainable Plant Protection, 70126, Bari, Italy.

³ National Institute of Biology, 1000 Ljubljana, Slovenia.

⁴ Plant Research International, 6708 PB Wageningen, Netherlands.

⁵ Benaki Phytopathological Institute, 14561 Kifissia, Greece.

⁶ RLP Agrosience, 67435 Neustadt an der Weinstraße, Germany.

⁷ Université de Liège, 5030 Gembloux, Belgium. sebastien.massart@ulg.ac.be

The ability to provide a fast, inexpensive and reliable diagnosis for any given viral infection is a key parameter in efforts to fight and control these ubiquitous pathogens. The recent developments of high-throughput sequencing (also called Next Generation Sequencing-NGS) technologies and bioinformatics have drastically changed the research on viral pathogens. It is now raising a growing interest for virus diagnostics. This review provides a snapshot vision on the current use and impact of high throughput sequencing approaches in plant virus characterization. More specifically, this presentation highlights the potential of these new technologies and their interplay with current protocols in the future of molecular diagnostic of plant viruses. The current limitations that will need to be addressed for a wider adoption of high-throughput sequencing in plant virus diagnostics are thoroughly discussed. This paradigm change gave rise to the COST Action 1407 which is currently launched. This Action, its objectives and expected impacts will be presented.

MODELLING THE ACCURACY OF THREE DETECTION METHODS OF *Grapevine leafroll-associated virus 3* IN DORMANT PERIOD BY A BAYESIAN APPROACH

Ruiz-García, A. B.¹, Martínez, C.¹, Vidal, E.², Olmos, A.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, 46113 Moncada, Valencia, Spain.
aolmos@ivia.es

² SapecAgro España, 46980 Paterna, Valencia, Spain.

Grapevine leafroll-associated virus 3 (GLRaV-3) is worldwide distributed and the most economically important virus that produces grapevine leafroll disease (GLD). Reliable, sensitive and specific methods are required for the exclusively multiplication of healthy propagation material and control of the disease. In this work sensitivity, specificity and likelihood ratios of DAS-ELISA, spot real-time RT-PCR and conventional real-time RT-PCR, were estimated by latent class models, useful when no gold standard test is available. A Bayesian approach was coupled to latent class models in order to facilitate decision-making in the selection of diagnostic tests. The statistic analysis was based on the diagnostic results of a total of 281 samples, collected during the dormant period from three different populations. The best-fit model (D48) obtained by the Bayesian approach revealed that the most specific method DAS-ELISA (value=0.99) is recommended for GLRaV-3 diagnostics in low GLRaV-3 prevalence populations because positive results are the most confident. The most sensitive method, conventional real-time RT-PCR (value=0.98), is appropriated in populations with medium of high prevalences because negative results are the most confident. A combination of DAS-ELISA and conventional real-time RT-PCR dramatically increases the accuracy of diagnostics. The flexibility and power of latent class Bayesian models open new possibilities in the diagnostic of grapevine viruses and could be applied to other models.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS PRIMEROS AISLADOS DE *Little cherry virus 1* EN ESPAÑA

Martínez, C.¹, Ruiz-García, A. B.¹, Santiago, R.², García, M.T.³, de Prado, N.⁴, Olmos, A.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, 46113 Moncada, Valencia, Spain. aolmos@ivia.es

² Servicio de Sanidad Vegetal de Badajoz, 06071 Badajoz, Spain.

³ Servicio de Sanidad Vegetal de Plasencia, 10600 Plasencia, Cáceres, Spain.

⁴ Estación de Avisos Agrícolas del Bierzo, 24549 Carracedelo, León, Spain.

Little cherry virus 1 (LChV-1), del género *Velarivirus*, familia *Closteroviridae*, fue identificado por primera vez por Keim-Konrad y Jelkmann en 1996. Los principales síntomas que produce en el cerezo son la reducción del tamaño y la pérdida de propiedades organolépticas del fruto. El virus, que se transmite por injerto y mecánicamente, está contemplado en las Directivas 2008/61/CE y 2014/98/UE. En junio de 2012, se analizaron muestras sintomáticas de brotes de la D.O. Valle del Jerte (21) y Ponferrada (5) mediante RT-PCR, para lo que se diseñaron iniciadores específicos basados en secuencias de LChV-1. En 17 muestras del Jerte y en las 5 de Ponferrada se obtuvo el producto específico esperado de 140 pb, indicando la presencia del virus. Dos de las muestras positivas, una del Jerte y otra de Ponferrada se seleccionaron para un posterior análisis por secuenciación masiva de siRNAs. El análisis bioinformático permitió recuperar para ambos aislados un genoma completo de 16933 nt (GenBank KX192366 and KX192367). La comparación de los aislados Jerte y Ponferrada con las secuencias disponibles en GenBank mostró una alta homología con el aislado Taian de LChV-1. La identidad encontrada para las ocho ORFs virales varió entre el 94.8% y el 98.9% con respecto al aislado chino. Además, el análisis filogenético de las siete secuencias completas de LChV-1 disponibles, agrupó los aislados españoles y el Taian como únicos componentes de un cluster.

NUEVOS AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE LA VERTICILOSIS: UN VIAJE DESDE LA RIZOSFERA DE OLIVO AL GENOMA BACTERIANO

Carmen Gómez-Lama Cabanás, David Ruano-Rosa, Antonio Valverde Corredor, Jesús Mercado-Blanco

Departamento de Protección de Cultivos, Instituto Agricultura Sostenible (CSIC), Campus 'Alameda del Obispo' s/n, Apartado 4084, 14080 Córdoba; E-mail: cgomezlama@gmail.com

Verticillium dahliae Kleb., causante de la Verticilosis del olivo (VO), constituye uno de los principales problemas bióticos para este cultivo. El control biológico es una de las medidas que, utilizada de forma complementaria a otras en una estrategia de manejo integrado, tiene gran potencial. El principal objetivo de este trabajo fue generar y caracterizar una colección de bacterias cultivables colonizadoras naturales de raíces de olivo que pudieran utilizarse como agentes de control biológico (ACB) efectivos frente a VO y otros patógenos de olivo. Se dispone así de una 'bacterioteca' compuesta por más de 300 aislados de raíces de plantones de olivo procedentes de diversos viveros de la provincia de Córdoba. Todos los aislados se evaluaron en cuanto a su capacidad antagonista *in vitro* frente al patotipo defoliante de *V. dahliae*, entre otros patógenos. Un total de 121 aislados mostraron capacidad inhibitoria de dicho patotipo, por lo que se caracterizaron respecto a fenotipos bacterianos tradicionalmente asociados al biocontrol y/o promoción del crecimiento vegetal (p.ej. fosfatasa, proteasa, sideróforo, 2,3-butanodiol, celulasa, quitinasa, etc.). En base a los resultados obtenidos se seleccionaron las 10 cepas bacterianas con mayor potencial antagonista para ser evaluados como ACB de la VO, utilizando plantones del cultivar Picual. Cuatro de las bacterias testadas redujeron la incidencia de la enfermedad en un 43 % con respecto al control, 6 disminuyeron la mortalidad en más de un 30% y 4 hicieron descender la severidad media en más de un 30%. Los aislados con mayor potencial como ACB de la VO pertenecen a los géneros *Pseudomonas* spp., *Paenibacillus* spp. y *Bacillus* spp. Sus genomas están siendo en la actualidad secuenciados y anotados para su análisis comparativo.

Financiado por los proyectos P12-AGR667 de la Junta de Andalucía y RECUPERA

***Pseudomonas viridiflava*, BIOTIPOS 1 Y 2 EN JUDÍA Y MALAS HIERBAS ASOCIADAS AL CULTIVO**

González, A.J.¹, Fernández-Sanz A.M.¹, Rodicio M.R.²

¹Programa de Patología Vegetal, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Apdo 13, 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anagf@serida.org

²Área de Microbiología, Universidad de Oviedo, Julián Clavería 6, 33006 Oviedo, Asturias.

Pseudomonas viridiflava ha sido asociada a daños en judía granja asturiana y su presencia en plantas no hospedadoras recogida por varios autores. Se tomaron muestras de judía y malas hierbas en nueve localidades de cuatro concejos asturianos, obteniéndose 48 aislamientos de *P. viridiflava*, 39 de malas hierbas y 9 de judía, de los biotipos 1 y 2 (47,9 y 52,1%, respectivamente) basados en los perfiles LOPAT.

Respecto a la presencia de las islas de patogenicidad T-PAI y S-PAI, se comprobó que 14 (29,2%) aislamientos poseían T-PAI, mientras que 34 (70,8 %) poseían S-PAI. Tanto los aislamientos de judía como de malas hierbas tenían mayoritariamente S-PAI (88,8 y 66,6%).

Mediante inoculación en vainas del cv Andecha, se vio que 27 aislamientos produjeron maceración del tejido (cinco de judía y 22 de malas hierbas), daño que no se correlacionó ni con el biotipo ni con el tipo de isla de patogenicidad. Dos aislamientos se inocularon en plántula, observándose daños más graves, llegando a morir parte de las plantas inoculadas.

De 35 aislamientos que representaban la mayor variabilidad de la serie en estudio, se obtuvieron las secuencias de los genes ADNr 16S, *rpoD*, *gyrB* y *gltA*. En la secuencia concatenada, de 2470 pb, de los tres loci últimos, se detectaron 167 sitios de segregación, con una diversidad nucleotídica de 0,019. Se encontraron 30 STs distintas, la ST1 fue compartida por cinco aislamientos de diferentes procedencias. En los árboles filogenéticos elaborados tanto con los genes por separado como concatenados, se comprobó que todos los aislamientos pertenecían al clado A.

***Pseudocercospora griseola* EN CULTIVOS DE JUDÍA DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS**

González, A.J.¹, Landeras, E.², Braña, M.², Trapiello, E.¹

¹ Programa de Patología Vegetal, Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Apdo. 13, 33300 Villaviciosa, Asturias. E-mail: anagf@serida.org

² Laboratorio de Sanidad Vegetal del Principado de Asturias, c/ Lucas Rodríguez Pire, 4 bajo, 33011 Oviedo, Asturias.

En septiembre de 2015 se observaron síntomas de mancha angular de la judía en una plantación del concejo de Valdés, cuyo agente causal se identificó morfológicamente como *Pseudocercospora griseola*. Se realizó una prospección en la región, detectándose también en una plantación del concejo de Coaña y en otras dos de Tineo. Las pérdidas en el cultivo fueron variables, siendo más severas en los dos campos que no recibieron tratamientos fitosanitarios (Valdés y Coaña).

El análisis de tres aislamientos monoconidiales mediante secuenciación de la región ITS, confirmó que se trataba de *P. griseola*. Las tres secuencias fueron idénticas (código de acceso LT222499) y mostraron una similitud del 100% y 99% con secuencias de *P. griseola* depositadas en las bases de datos.

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en los cultivares andecha y maruxina. El inóculo se preparó batiendo dos placas conteniendo el hongo, con agua destilada estéril y regando con ello las plántulas de judía que ya presentaban la primera hoja verdadera. El ensayo se mantuvo en cámara climática con fotoperiodo 16h luz, 23° C y 80% de humedad relativa, durante 45 días, tras los cuales se comprobó la presencia del patógeno en las plantas inoculadas y su ausencia en las plantas control.

Se observó una importante diferencia en los síntomas producidos en los dos cultivares, así mientras en el cv maruxina se observaban las manchas típicas de la enfermedad en las hojas, en el cv andecha se produjo una clorosis generalizada de las plantas previa a la aparición de los síntomas en hoja.

EL QUITOSANO AUMENTA EL PARASITISMO DE HUEVOS DEL NEMATODO *Meloidogyne javanica* POR EL HONGO NEMATÓFAGO *Pochonia chlamydosporia* E INDUCE SUS PROTEASAS

Escudero, N.¹, Ferreira, S. R.², Lopez-Moya, F.¹, Naranjo-Ortiz, M.A.³, Marin-Ortiz, A. I.¹, Thornton, C.R.⁴ and Lopez-Llorca, L.V.¹

¹Laboratory of Plant Pathology, Department of Marine Sciences and Applied Biology, Multidisciplinary Institute for Environmental Studies (MIES) Ramón Margalef, University of Alicante, Alicante, Spain.

²Laboratory of Immunology and Genomic of Parasites. Department of Parasitology, Institute of Biological Science, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

³Centre for Genomic Regulation Comparative Genomics Group, Barcelona, Spain.

⁴Biosciences, College of Life & Environmental Sciences, University of Exeter, Exeter

Pochonia chlamydosporia (**Pc**), es un hongo nematófago y endófito radicular, que utiliza apresorios y enzimas extracelulares, principalmente proteasas, para infectar los huevos de nematodos fitopatógenos. A diferencia de otros hongos, **Pc** es resistente al quitosano, una forma desacetilada de la quitina, que se utiliza en agricultura para inducir defensas vegetales y contra patógenos de cultivos. Hemos demostrado que el quitosano aumenta la incidencia y la severidad del parasitismo de **Pc** sobre huevos del nematodo fitopatógeno *Meloidogyne javanica*. Utilizando anticuerpos específicos contra las proteasas de **Pc** VCP1 (subtilisina) y SCP1 (una serín carboxipeptidasa), comprobamos que el quitosano induce ambas proteasas en el proceso de parasitismo. El quitosano aumenta la secreción de VCP1 en la pared celular de los conidios de **Pc**, en los ápices de los tubos de germinación y en los apresorios sobre los huevos de *M. javanica*. Hemos detectado por primera vez SCP1 en huevos de nematodos parasitados por el hongo. **Pc** presenta una gran diversidad de subtilisinas (S8) y serín carboxipeptidasas (S10). La familia S8 (VCP1) presenta evidencias de duplicación génica lo que sugiere su posible adaptación a diversas fuentes de nutrientes. Nuestros resultados demuestran que el quitosano aumenta el parasitismo de huevos de nematodos por **Pc** mediante la inducción de sus proteasas y la diferenciación de apresorios. Ello, indica que el quitosano es un aditivo adecuado para aumentar la eficacia del control biológico de *Meloidogyne* spp. por **Pc**.

EVALUACIÓN DE RUTAS ALTERNATIVAS DE SÍNTESIS DE IAA EN EL COMPLEJO *Pseudomonas syringae*

Pintado, A., Pérez-Martínez, I., Ramos, C.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”, Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos, 29010.
E-mail: ctr@uma.es

El ácido indol-3-acético (IAA) es una fitohormona perteneciente al grupo de las auxinas cuya producción está ampliamente distribuida entre bacterias asociadas a plantas. El IAA está implicado, entre otros procesos, en proliferación celular y maduración de las plantas. Además, se ha descrito el papel de esta hormona en la regulación de la expresión génica en bacterias. En bacterias fitopatógenas, se han descrito varias rutas de síntesis de IAA, siendo la mejor caracterizada la ruta de la indol-3-acetamida (IAM), proveniente del triptófano por la acción de una monooxigenasa (gen *iaaM*), y transformándose en IAA mediante la acción de una hidrolasa (gen *iaaH*). *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 (Psv) utiliza esta ruta para la síntesis de IAA, codificando dos parálogos de los genes *iaaM* e *iaaH* (operones *iaaMH-1* e *iaaMH-2*). Anteriormente, demostramos que un mutante de Psv en el operón *iaaMH-1* produce una cantidad de IAA significativamente inferior que la sintetizada por la cepa silvestre, así como induce una sintomatología reducida en olivo. Por el contrario, un mutante en el operón *iaaMH-2* (que codifica un pseudogen *iaaM-2*), produce una cantidad de IAA similar a la cepa silvestre y no induce una virulencia atenuada. Sin embargo, e inesperadamente, tanto el mutante *iaaMH-1* como en el doble mutante *iaaMH-1/iaaMH-2* sintetizan una cantidad residual de IAA, lo que sugiere la existencia de una ruta alternativa para la producción de este compuesto en Psv. Recientemente, hemos identificado otras cepas del complejo *Pseudomonas syringae* capaces de producir IAA que no codifican genes homólogos a los implicados en las rutas conocidas hasta la fecha. Tras la obtención de los borradores de los genomas de varios aislados pertenecientes a los diferentes patovares de *P. savastanoi*, y utilizando también otros genomas de cepas modelo incluidas en el complejo *P. syringae*, hemos llevado a cabo un análisis bioinformático de genes potencialmente implicados en la biosíntesis de IAA. Actualmente, estamos llevando a cabo la construcción de mutantes en algunos de estos genes, para posteriormente determinar su implicación en la biosíntesis de esta fitohormona.

HACIA LA IDENTIFICACIÓN DEL REGULÓN HRPL EN *Pseudomonas savastanoi*

Moreno-Pérez, A.¹, Murillo, J.², Bardaji, L.², Ramos, C¹.

¹Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea «La Mayora», Universidad de Málaga-CSIC, Área de Genética, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos s/n, 29010; E-mail: crr@uma.es

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

La especie *Pseudomonas savastanoi*, perteneciente al complejo *Pseudomonas syringae*, incluye cepas bacterianas aisladas de diversos huéspedes. Hasta la fecha, se han descrito 4 patovares de *P. savastanoi* capaces de infectar plantas leñosas: pv. savastanoi (aislados de olivo), pv. nerii (aislados de adelfa), pv. fraxini (aislados de fresno) y pv. retacarpa (aislados de retama). Además, recientemente se ha identificado a *P. savastanoi* como el agente causal de la necrosis bacteriana de la dipladenia (*Mandevilla* spp.), cuyo rango de huésped es diferente al de los patovares ya establecidos dentro de esta especie (ver comunicación presentada por E. Caballo-Ponce *et al.*). Con el objetivo de avanzar en el conocimiento de los factores genéticos determinantes del rango de huésped en *P. savastanoi*, hemos obtenido los borradores de los genomas de varios aislados pertenecientes a los diferentes patovares de esta especie (incluyendo un aislado de dipladenia). Este trabajo se ha centrado en el análisis bioinformático del repertorio de efectores (T3Es) del sistema de secreción tipo III (T3SS) de los diversos aislados secuenciados. Se ha identificado el conjunto de efectores comunes a todos los patovares de *P. savastanoi*, así como los efectores específicos de cada uno de ellos. Por otro lado, hemos construido mutantes de pérdida de función del gen *hrpL* en cepas modelo de cada patovar y en el aislado de dipladenia. Este gen, cuya implicación en patogenicidad se ha estudiado ampliamente en aislados de olivo, codifica un regulador positivo de la transcripción de la mayoría de los T3Es y de otros factores de virulencia. Actualmente estamos analizando el papel del gen *hrpL* en 1) la patogenicidad de todos los aislados seleccionados y, 2) la expresión de varios T3Es seleccionados.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2014-53242-C2-1-R y AGL2014-53242-C2-2-R del MINECO (cofinanciados por FEDER).

BASIDIOMICETOS ASOCIADOS A LA MADERA DE LA VID EN EUROPA

González, V.¹, Fischer, M.²

¹ Unidad de Sanidad Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-CITA, Avenida de Montañana, 930, 50059 Zaragoza, España. vgonzalezg@aragon.es

² Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Obst- und Weinbau, Geilweilerhof, D-76833 Siebeldingen, Germany.

Hasta la actualidad han sido citadas un gran número de especies de basidiomicetos viviendo sobre madera y otros tejidos de *Vitis vinifera*. Existe información en la literatura disponible sobre algunas de estas especies ya desde el siglo XIX y principios del XX, aunque ha sido en los últimos años cuando se ha venido investigando más a fondo sobre la relación de algunos de estos táxones con las denominadas enfermedades de la madera de la vid (EMVs), en especial la “yesca”. La presente contribución presenta un listado de 24 especies capaces de fructificar sexualmente en vid; para 10 de ellas se aportan una serie de datos e información relacionada con sus estrategias y ciclos de vida, rango de huésped, distribución geográfica, modo y vectores de transmisión (en su caso) y sus principales caracteres diagnósticos. El resto de táxones adicionales son listados indicando únicamente sus caracteres principales. De la información recopilada en la bibliografía consultada y las observaciones de los autores, puede deducirse que sólo una pequeña parte de los táxones pueden ser considerados como patógenos primarios de la vid y están claramente relacionados con las mencionadas EMVs tanto a nivel de fenómenos activos de pudrición parda como de expresión de síntomas en planta. Con la excepción de éstos, se han reportado fenómenos de colonización y degradación en madera vid asociados a algunas de las restantes especies de basidiomicetos aunque con baja intensidad y no claramente asociados a la sintomatología de las mencionadas micosis, estando considerados como patógenos débiles o secundarios que pueden causar fenómenos de pudrición en madera ya muerta.

BÚSQUEDA DE FUENTES NATURALES DE RESISTENCIA A LA FUSARIOSIS VASCULAR (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*) EN CULTIVARES DE SANDÍA (*Citrullus lanatus*)

V. González¹, Cochiere, O.², Sales, E.³, Montaner, C.³, Garcés-Claver, A.²

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Unidad de Sanidad Vegetal¹Unidad de Hortofruticultura² /. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Avenida de Montañana, 930, 50059 Zaragoza, España. vgonzalezg@aragon.es

³Escuela Politécnica Superior de Huesca. Universidad de Zaragoza. Huesca.

La fusariosis vascular es una de las enfermedades fúngicas más importantes del cultivo de la sandía a nivel mundial. El agente causal, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (E.F. Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen (*Fon*), forma parte de la especie colectiva *F. oxysporum*, un patógeno global de suelo para el que se han descrito numerosas razas, patotipos o *formae specialis* según el huésped parasitado o su especificidad por genotipo vegetal. La presente contribución ha realizado una búsqueda preliminar de resistencias naturales basada en bioensayos de inoculación artificial de cepas patrón conocidas en cultivares locales de sandía, constituyendo así el punto de partida para una posterior selección y uso de material vegetal resistente. Además, el protocolo de producción e inoculación del patógeno empleado permitió la identificación de aislados patogénicos problema procedentes de zonas de cultivo del sureste peninsular cuando éstos fueron inoculados en cultivares testigos de referencia. Los reaislamientos fúngicos a partir de plantas muertas o sintomáticas resultaron positivos en todos los casos para las diferentes razas testigo de *Fon* y para los aislados problema nacionales inoculados previamente. El estudio fue basado en la inoculación y el posterior análisis de las reacciones de sensibilidad/tolerancia en 38 entradas de variedades locales de sandía proporcionadas por el Banco de Germoplasma de especies Hortícolas de Zaragoza. Los resultados mostraron diferentes reacciones de las variedades de sandía al ataque del patógeno y confirmaron la idoneidad del método para la realización de programas de *screening* masivo de germoplasma vegetal de sandía basados en los perfiles y combinaciones de patogenicidad con patotipos testigo, como paso previo a la detección y búsqueda de fuentes de resistencia que pueden ser explotadas en programas de mejora de sandía.

UTILIZACIÓN DE TÉS DE COMPOST CON MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS PARA SUPRESIÓN DE ENFERMEDADES DE PLANTAS

Marín, F.¹, Santiago, L.¹, Ruíz, A.¹, Belda, J.E.¹

¹ Departamento de I+D, Área Microbiología, Koppert España S.L., C/Cobre, 22-24. Parcela P.14, Nave 3. Pol. Industrial Ciudad del Transporte de Poniente. 04745 La Mojonera (Almería) España. fmarin@koppert.es

Los té de compost son extractos acuosos generados a partir de materia orgánica residual biológicamente estabilizada que extraen y multiplican los microorganismos presentes en la materia de partida, los cuales pueden ejercer cierta acción supresora sobre distintos agentes fitopatógenos. Esta capacidad, junto al aporte nutricional que realiza y la sencillez de su aplicación, favorecen su utilización en agricultura. En el presente trabajo se llevó a cabo el análisis de las poblaciones microbianas presentes en un té de compost aireado (ACT) generado a distintos tiempos (8, 24 y 72 h). Los resultados mostraron máximas poblaciones de bacterias, seguidas por hongos y levaduras respectivamente, tras 24 h de aireación, por lo que se seleccionó esta condición para la ejecución del segundo de los ensayos. Éste consistió en su evaluación como agente de control biológico en relación con la supresión *in vitro* del crecimiento micelial de ocho hongos fitopatógenos responsables de enfermedades típicas de cultivos protegidos del sureste peninsular. Se aplicó dicho té de compost al medio PDA a concentraciones de 0,5%, 2,5% y 5% (v/v) y se comparó con un control químico (fungicida). En general, los mayores porcentajes de inhibición se obtuvieron para la concentración de té al 5%. En el caso de *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* y *Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersici*, la supresión ejercida por el té de compost fue significativamente superior que con el empleo de fungicidas. También se obtuvieron resultados favorables para *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora capsici* y *Botrytis cinerea*, si bien el efecto de fungicida fue significativamente superior al del té. En los casos de *Pythium aphanidermatum* y *Sclerotinia sclerotiorum*, el empleo del té de compost apenas produjo inhibición del patógeno, en contraste con el uso de fungicida, que tuvo un efecto significativamente superior. Por tanto, la aplicación de los té a los cultivos puede ser considerada como una estrategia favorable, viable y medioambientalmente respetuosa en el control de enfermedades fúngicas vegetales, aunque para ello se precisa de estudios *in vivo* en semi-campo y, por último, de campo.

PODER PATÓGENO DE VARIAS ESPECIES DE *Phytophthora* AISLADAS DE PLANTAS Y DE AGUAS SUPERFICIALES SOBRE ESPECIES DE PLANTAS HORTÍCOLAS.

Fernández-Martín, A.¹, Poyatos-Martínez, M.¹, Aguilera-Lirola, A.², Pérez-Hernández, A.¹, Giménez-Segura, L.¹, Gómez-Vázquez, J.¹, de Cara-García, M.¹

¹IFAPA. Centro La Mojonera. 04745, Almería. franciscom.cara@juntadeandalucia.es

²SCA Campoadra. Avenida de la legión española 2. Puente del Río, Adra. 04779, Almería.

El pimiento es ampliamente cultivado en invernadero en el sureste de Andalucía. Para estudiar la etiología y la epidemiología de la "Tristeza" del cultivo en la Vega del río Adra, se analizaron plantas enfermas de varios invernaderos y aguas fluyentes o embalsadas en diferentes puntos, antes de ser utilizadas para el riego. Una sola especie de *Phytophthora*, *P. capsici* se aisló de las plantas enfermas, mientras que tres especies del género: *P. nicotianae*, *P. cryptogea* y *Phytophthora* sp. se aislaron del agua. De los aislados obtenidos, se seleccionaron ocho que habían sido previamente identificados en base a sus características morfológicas y moleculares. El poder patógeno, sobre las ocho especies hortícolas más frecuentes en los invernaderos de la zona, se evaluó en un experimento de inoculación en invernadero de ambiente semicontrolado. Se inocularon dos aislados de cada especie con un diseño experimental de parcelas divididas en cuatro bloques completos al azar, con parcelas elementales constituidas por tres plantas crecidas en cada contenedor. Las plantas se mantuvieron en el invernadero dos meses después de la inoculación y se evaluaron los síntomas mostrados por las plantas. Los dos aislados de *P. capsici* causaron síntomas de marchitez y muerte en un alto porcentaje de las plantas de la mayoría de las especies inoculadas. El poder patógeno de los dos aislados de *P. nicotianae* fue más discreto causando síntomas sobre pocas especies hortícolas. Las plantas inoculadas con *P. cryptogea* y *Phytophthora* sp. y las no inoculadas no mostraron síntomas. Los resultados obtenidos indican el alto poder patógeno y carácter polífago de los aislados de *P. capsici* y el posible riesgo que puede conllevar la utilización de agua contaminada con *P. nicotianae*. Proyecto RTA2014-00078-00-00, financiado por INIA y Ministerio de Economía y Competitividad. Cofinanciado con fondos FEDER.

SUSCEPTIBILIDAD DE VARIAS HORTÍCOLAS A AISLADOS DE *Phytophthora capsici* OBTENIDOS DE PIMIENTO Y CALABACÍN.

Giménez-Segura, L.¹, Poyatos-Martínez, M.¹, Fernández-Martín, A.¹, Gómez-Vázquez, J.¹, de Cara-García, M.¹

¹IFAPA. Centro La Mojonera. 04745, Almería. francisco.com.cara@juntadeandalucia.es

En el año 2013, *Phytophthora capsici* fue citada por primera vez en Almería en cultivo de calabacín. En prospecciones más recientes ha sido aislada de forma prevalente en invernaderos de la misma zona con pimientos con síntomas de seca o tristeza. Cucurbitáceas y solanáceas (junto con judía) son objeto de rotación en la mayoría de los invernaderos almerienses, factor que puede favorecer la supervivencia del patógeno y los daños por él ocasionados. Por ello se planteó este trabajo, en el que se ha estudiado el rango de hospedadores de dos aislados de calabacín y otros dos de pimiento de *P. capsici*. Se han considerado como posibles hospedadores objeto de estudio las ocho especies hortícolas preponderantes en las rotaciones de los invernaderos del Sudeste: pimiento, tomate, berenjena, pepino, calabacín, melón, sandía y judía. El experimento se desarrolló en cámara de cultivo entre 25 y 32 °C y 14 horas de luz, respondiendo a un diseño factorial en parcelas divididas con cuatro repeticiones en bloques al azar. Cada unidad experimental consistió en un contenedor de 1 litro relleno con vermiculita conteniendo 3 plantas, que fue inoculado mediante riego al sustrato con 50 ml de un triturado de los aislados del hongo cuando las plantas contaban con 2-4 hojas verdaderas. Se hicieron dos lecturas semanales de los síntomas (necrosis de la base del tallo, clorosis, marchitez y muerte de las plantas) hasta transcurridos 35 días de la inoculación. Respecto al espectro patogénico de los aislados, no se observaron diferencias asociadas al hospedante de origen de los mismos. De las hortícolas, judía, berenjena y pimiento fueron las menos susceptibles a la infección por los aislados de *P. capsici*. Las primeras plantas en morir fueron de calabacín, pepino y tomate. Proyecto RTA2014-00078-00-00, financiado por INIA y Ministerio de Economía y Competitividad. Cofinanciado con fondos FEDER.

EVALUACIÓN DE ALTERNATIVAS AL USO DE PROCLORAZ PARA EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE VERDE DEL AJO CAUSADA POR *Penicillium allii*.

Arias-Martín, M.¹, Gálvez, L.¹, Martínez, A.¹, Palmero, D.¹

¹ Laboratorio de Protección Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040, Madrid, España. daniel.palmero@upm.es

La podredumbre verde del ajo (*Allium sativum* L.), se ha asociado fundamentalmente con *Penicillium allii* Vicent & Pitt. El ataque temprano del hongo impide la brotación del diente y provoca un alto porcentaje de marras, mientras que ataques tardíos provocan amarilleos de las hojas y un menor desarrollo del sistema radicular. El hongo permanece viable en los residuos de cosecha, aunque los propios dientes de siembra pueden también constituir una fuente de inóculo para la siguiente campaña. En la actualidad la materia activa fungicida procloraz es utilizada de forma generalizada por los agricultores para el tratamiento de los dientes de siembra de forma preventiva. Su próxima retirada del mercado ha motivado este trabajo, en el que se pretende realizar una evaluación preliminar de alternativas al uso de procloraz para el control de la podredumbre verde del ajo. La identificación morfológica y molecularmente, y las pruebas de patogenicidad de 11 aislados de *P. allii* de muestras recogidas de campos de Castilla-La Mancha y Castilla y León permitieron seleccionar al aislado más virulento para su uso en los diferentes ensayos. Se estudió la efectividad de 8 tratamientos tanto para su uso preventivo (ensayos con dientes de siembra sanos sembrados sobre sustrato con inóculo) como curativo (ensayos con dientes de siembra inoculados). Los productos evaluados incluyeron 5 fungicidas químicos de síntesis, 2 productos con base cúprica, y un hongo antagonista (*Trichoderma viride* Pers.). Además se estudió su capacidad para inhibir la germinación de los conidios del hongo *in vitro* a las 24 y 48h de exposición. Tras finalizar los ensayos se analizó el porcentaje de germinación, la longitud y peso de la raíz y el brote, el porcentaje de podredumbre del sistema radicular así como la capacidad de inhibición de la germinación. Los resultados permiten discutir la efectividad de los diferentes productos como alternativas viables al uso de procloraz en presiembra.

PUESTA A PUNTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE AISLADOS DE *Fusarium proliferatum* MEDIANTE EL USO DE ANÁLISIS DE IMAGEN

Gálvez, L.¹, Barreiro, P.², Arias-Martín, M.¹, Palmero, D.¹

¹Laboratorio de Protección Vegetal. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040, Madrid, España. daniel.palmero@upm.es

²Departamento de Ingeniería Agroforestal. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040, Madrid, España.

El hongo *Fusarium proliferatum* actúa como fitopatógeno sobre diversas plantas de interés agroalimentario (maíz, trigo, espárrago, ajo, etc.). Además de por su patogenicidad, este hongo destaca por su capacidad para producir micotoxinas que pueden acumularse en los productos cosechados, lo que supone un riesgo potencial para la salud humana. Diferentes estudios subrayan la gran variabilidad intraespecífica que presenta esta especie atendiendo a análisis filogenéticos, a su potencial como productor de micotoxinas o a su tasa de crecimiento. Sin embargo, no existen estudios sobre la variabilidad en base a otras características fenotípicas de sus colonias, debido en parte a la dificultad de realizar la cuantificación del color o mediciones manuales exactas de forma rutinaria. El análisis de imagen se presenta como una técnica alternativa para la obtención de diferentes tipos de parámetros fenotípicos, ya sean de tipo morfológico o cromático, de forma automática y rápida. En este trabajo se pretende poner a punto una metodología que permita obtener diferentes parámetros fenotípicos (morfológicos y cromáticos) de las colonias de *F. proliferatum* mediante el uso de técnicas análisis de imagen. Para ello se han utilizado 27 aislados fúngicos de *F. proliferatum*, que fueron sembrados en placas Petri con medio de cultivo, incubados a 25 °C y sobre los se realizaban las capturas de imagen periódicas hasta un tiempo máximo de 15 días de incubación. Las imágenes fueron analizadas con el programa MATLAB mediante la creación de rutinas específicas. Los resultados muestran que el análisis de imagen es una herramienta óptima para obtener características fenotípicas de *F. proliferatum* de una forma fiable, automática y fácilmente estandarizable.

COMPOSICIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DE BIOFILMS EN *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni***Sabuquillo, P.¹, Cubero, J.¹**

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

La mancha bacteriana de los frutales de hueso y del almendro, provocada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (*Xap*), es una enfermedad extendida en diferentes áreas del mundo, aunque es considerada de cuarentena en la Unión Europea. En España el control de la mancha bacteriana es fundamental puesto que es uno de los principales productores de fruta de hueso para consumo en fresco, especialmente de melocotón, pero también de nectarina, cereza, albaricoque y ciruela. Hay que destacar además que esta bacteria afecta al almendro, un cultivo de vital importancia en algunas zonas del país.

Xap emplea distintas estrategias de supervivencia durante el proceso de infección y entre ellas se encuentra su organización en comunidades o agregados bacterianos tipo biofilm o biopelícula. Las bacterias que forman parte de estas estructuras generan sustancias extracelulares poliméricas que mantienen a las células agregadas. Entre estas moléculas están incluidos polisacáridos, proteínas, lípidos y ADN extracelular (ADN-e).

Mediante estudios de microscopía electrónica se ha demostrado la existencia de biopelículas que contienen una matriz formada por fibras en hojas de melocotonero, almendro, albaricoquero y ciruelo infectadas con *Xap*.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en relación a la composición de dicha matriz extracelular. Los estudios de crecimiento y agregación de *Xap* en diferentes medios, en presencia y ausencia de DNAasa, han confirmado el papel que el ADN-e juega en los procesos de agregación y formación de biopelículas en *Xap*. Además dicho ADN-e se ha visualizado mediante técnicas de microscopía de fluorescencia en las fibras que conforman la matriz.

Finalmente el ADN-e está siendo caracterizado mediante técnicas moleculares con el objetivo de identificar su origen. Estos análisis nos permitirán determinar si el ADN-e es producto de la secreción específica por parte de las bacterias o generado por la muerte y descomposición de la población bacteriana.

El conocimiento sobre la composición de las biopelículas abre la puerta a nuevas estrategias de control de enfermedades bacterianas en plantas, siendo la degradación del ADN-e una de las alternativas a evaluar.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA2014-00018-C02-01.

LA RIZOBACTERIA *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606 NO PRESENTA ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO COMO MECANISMO ADICIONAL DE BIOCONTROL

Tienda, S., Vida, C., Arrebola, E., de Vicente, A. y Cazorla, F.M.

Instituto de Horticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, España. E-mail: sandratienda@uma.es

Pseudomonas chlororaphis PCL1606 es una rizobacteria, que muestra capacidad antagonista y actividad de biocontrol frente a diferentes hongos fitopatógenos de suelo, entre ellos *Rosellinia necatrix*, que produce la enfermedad denominada podredumbre blanca radicular en el aguacate. Se ha demostrado que PCL1606 produce, entre otros compuestos antifúngicos, 2 hexil, 5 propil resorcinol (HPR), el cual es clave para el antagonismo y la actividad biocontrol contra *R. necatrix*, y participa en la colonización de la rizosfera de aguacate. En este trabajo se analiza la posible actividad promotora del crecimiento de la planta (PGPR) de *P. chlororaphis* PCL1606, como mecanismo adicional implicado en el control biológico. Para ello, se realizaron ensayos in vitro con semillas de tomate, así como ensayos en plantas comerciales de aguacate de 6 meses, sin que se apreciara promoción del crecimiento. También se estudiaron actividades relacionadas con el PGPR, como la actividad 1-aminociclopropano-1-carboxylato (ACC) deaminasa, la producción de ácido indol acético (IAA), la solubilización de fosfatos o la producción de sideróforos. Los resultados obtenidos de los distintos ensayos, muestran que la cepa *P. chlororaphis* PCL1606 no tiene actividad promotora del crecimiento vegetal.

*Este trabajo está siendo financiado por el Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Economía (AGL2014-52518-C2-1-R; MINECO, España) y cofinanciado con fondos FEDER (EU). S. Tienda y C. Vida están siendo financiadas con una ayuda del programa FPI del MINECO.

RESULTADOS INICIALES SOBRE LA EFECTIVIDAD DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO SALICÍLICO (SA) COMO TRATAMIENTO CONTRA LA ENFERMEDAD DE LA TRISTEZA DEL PIMIENTO DESARROLLADA POR EL HONGO *Phytophthora parasitica* Dastur (1913).

Del Moral-Martínez, J.¹, Espinosa, F.², Del Moral de la Vega, J.³

¹ Grupo de Investigación del Área de Recursos Naturales y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura (RNM015), Plaza San José Manyanet, nº12, 1ºC, 06006, Badajoz.

² Área de Fisiología Vegetal. Dpto. de Biología Vegetal, Ecología y Ciencias de la Tierra. Universidad de Extremadura. Avda/ Elvas, s/n, 06071, Badajoz.
espinosa@unex.es.

³ Grupo de Investigación del Área de Recursos Naturales y Medio Ambiente de la Junta de Extremadura (RNM015), CICYTEX. A5 km 372, 06187 Guadajira (Badajoz).
jose.moral@gobex.es

Ante la más que relevante reducción de productos fitosanitarios para su uso frente a plagas y enfermedades de los vegetales cultivados, se han ido definiendo diversas líneas de investigación dirigidas a la determinación de sustancias activas y/o procedimientos que puedan desencadenar la estimulación de las defensas naturales de las plantas. En este trabajo se exponen resultados iniciales sobre la efectividad de la aplicación de una concentración de Ác. Salicílico (SA) (0,7g/l) sobre plántulas de pimientos *Capsicum annum* L. var. Jaranda ante una enfermedad –la tristeza del pimiento, causada por el hongo *Phytophthora parasitica* Dastur (1913)- y ante el posible daño causado por herbívoros, en este caso ejercido antrópicamente en laboratorio. La efectividad del tratamiento mediante la aplicación de SA ha mostrado ser igual de efectiva que el fungicida Fosetil-al (80%), obteniendo una supervivencia del 82% de las plántulas infectadas, frente al 92% de muertes producidas en las bateas de cultivo inoculadas sin ningún tratamiento. La aplicación de SA ha mostrado ser respetuosa con la micoflora del sustrato de cultivo, permitiendo el desarrollo significativo de otros hongos no patógenos, situación opuesta a la mostrada en las bateas de cultivo tratadas con el fungicida Fosetil-al.

EL DIAGNÓSTICO INTEGRATIVO DE NEMATODOS LONGIDORIDOS REVELA UNA EXTRAORDINARIA DIVERSIDAD Y PREVALENCIA EN OLIVO EN ANDALUCÍA

Archidona-Yuste, A., Navas-Cortés, J.A., Cantalapiedra-Navarrete, C., Palomares-Rius, J.E., y Castillo, P.

Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004 Córdoba, España.
p.castillo@csic.es

Las infecciones de olivo por nematodos fitoparásitos se han asociado con reducciones del crecimiento y vigor en varios países de la Cuenca Mediterránea. Los nematodos ectoparásitos migratorios de la familia Longidoridae (*Longidorus*, *Paralongidorus* y *Xiphinema*) comprenden especies polífagas, y algunas de ellas transmiten específicamente virus vegetales (nepovirus) de importancia económica. Hasta hoy, a nivel mundial, se han citado 9 especies de *Longidorus* y 16 especies de *Xiphinema* asociadas con olivo. En este trabajo se han realizado prospecciones fitonematológicas sistematizadas y extensas en olivo cultivado (*O. europaea* subsp. *europaea*) y silvestre (*O. europaea* subsp. *sylvestris*) en un total de 453 puntos de muestreo (115 asociados a olivo silvestre y 338 a olivo cultivado), ampliamente distribuidos en 211 localidades del territorio andaluz. El diagnóstico integrativo (combinando estudios morfométricos y moleculares) ha permitido identificar 13 especies del género *Longidorus* (6 de ellas nuevas para la ciencia) y 32 especies del género *Xiphinema*, 10 especies pertenecientes a *X. americanum*-group (2 de ellas nuevas para la ciencia) y 22 especies pertenecientes a *X. no-americanum*-group, (8 de ellas nuevas para la ciencia). La prevalencia media fue 10 veces mayor en *Xiphinema* spp. que en *Longidorus* spp. (85,0% vs. 8,4%), siendo la prevalencia de *Longidorus* spp. en olivo silvestre mayor que en olivo cultivado (16,0% vs. 6,0%), sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas en *Xiphinema* spp. (93,9% vs. 81,7%). La distribución geográfica de *Longidorus* spp. sugiere un patrón relacionado con factores edáficos y ecológicos, mientras que en *Xiphinema* spp. estuvieron ampliamente distribuidas y diferencialmente asociadas con la subespecie de olivo. Los análisis filogenéticos basados en ADN ribosómico (fragmentos D2-D3 del gen 28S, 18S, región ITS) han demostrado una elevada diversidad críptica y han confirmado la delimitación y discriminación de las diferentes especies encontradas. Asimismo, la filogenia de los tres marcadores moleculares mantuvo la mayoría de los linajes y grupos detectados en ambos géneros en estudios anteriores. En conclusión, la extraordinaria prevalencia y diversidad de este grupo de nematodos en olivo en Andalucía sugiere que el sur de la Península Ibérica constituye un centro evolutivo de *Longidorus* spp. y *Xiphinema* spp.

Investigación financiada por P12-AGR-1486-CICE, AGL2012-37521-MINECO, ArimNET_ERANET-219262-INIA, y fondos FEDER (EU).

ÍNDICE DE AGALLAS DEL CULTIVO PREVIO Y DENSIDADES PRE-TRASPLANTE DE *Meloidogyne Incognita* COMO ESTIMADORES PREDICTIVOS DE LAS PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN EN CALABACÍN.

Vela-Delgado, M.D.¹, Verdejo-Lucas. S.², Talavera-Rubia M.³.

¹ IFAPA Chipiona, Camino de Esparragosa s/n, 11550 Chipiona (Cádiz), España.

² IFAPA Centro de La Mojonera. 04745 Almería, Spain. Paraje San Nicolas s/n. 04745 La Mojonera (Almería), España.

³ IFAPA Camino de Purchil, Granada, Spain, Camino de Purchil s/n, 18004 Granada, España. miguel.talavera@juntadeandalucia.es

En los programas de protección integrada frente a nematodos se utiliza la densidad de nematodos en suelo pre-trasplante (Pi) para estimar las potenciales pérdidas que puede sufrir un cultivo según los modelos de Seinhorst y/o Oostenbrink. No obstante, la determinación de las densidades en suelo de *Meloidogyne* requiere de técnicos especializados capaces de distinguir *Meloidogyne* de otros nematodos en suelo. Desde un punto de vista práctico, se ha propuesto el uso del índice de agallas (IA) del cultivo previo como estimador del daño potencial en el siguiente cultivo. En el presente trabajo se valora el uso del índice de agallas en calabacín cv. Amalthee como estimador del daño causado por *M. incognita* al siguiente cultivo. Se midió el índice de agallas de un cultivo previo de calabacín y las densidades de *M. incognita* por 250 cm³ de suelo en el momento del trasplante del siguiente calabacín en 36 parcelas de 25 m² (10 plantas/parcela), que tenían diferentes niveles de infestación, durante 4 ciclos de cultivo consecutivos en un invernadero experimental del IFAPA centro Chipiona (1040 m²) Cádiz (36°44'56"N - 6°24'06"W). Se realizaron dos ensayos en primavera-verano (febrero a junio) y dos en otoño-invierno (octubre-enero). Se realizaron análisis de regresión de las variables de producción (producción comercial y destrío) sobre las variables explicativas (índices de agallas de un cultivo previo y densidades iniciales de *M. incognita*). Se comparó el poder explicativo de modelos de regresión lineal, basados en las ecuaciones de Oostenbrink. El poder explicativo de las ecuaciones obtenidas, fue mayor para las ecuaciones basadas en el índice de agallas $R^2_{GI} = 0,4761$ que para las basadas en las densidades iniciales $R^2_{Pi} = 0,2327$. Para los ciclos de primavera, se observó que aquellas parcelas con densidades iniciales menores de 100 nematodos por 250 cm³ de suelo presentaban mayor precocidad, producción comercial y menor destrío que aquellas con niveles superiores a 100 nematodos/ 250 cm³. Sin embargo, estas diferencias no se observaron durante los ciclos de otoño.

SELECCIÓN *IN VITRO* DE BACTERIAS COMO POSIBLES AGENTES DE BIOCONTROL DE *Fusarium solani* PATÓGENO DE FRESA

Rodríguez-Navarro, D. N., Capote, N., Basallote-Ureba, M. J.

IFAPA Las Torres-Tomejil, Apdo. Oficial, 41200 Alcalá del Río, Sevilla, España.
dulcenombre.rodriguez@juntadeandalucia.es

La eficacia de un formulado comercial compuesto de dos especies de *Bacillus* ha sido previamente probada en el control de *F. solani* (*Fs*) en plantas de fresa. En este estudio hemos enfrentado dos aislados patógenos de *Fs* con cinco cepas de bacterias rizosféricas: *Bacillus* sp. BPA4b, *B. aryabhatai* T302 y *Pseudomonas aeruginosa* P83 (proporcionados por RESBIOAGRO) y dos *Pseudomonas* sp. AMG66 y AMG77 (cedidas por el Dr. Ollero, Universidad de Sevilla). Estos microorganismos han sido previamente caracterizados como potenciales antagonistas de diversos hongos y oomicetos patógenos.

Para ello se dispusieron discos de 5 mm de diámetro de un cultivo en crecimiento activo del hongo patógeno en el centro de una placa con APD; 48 h después se sembraron radialmente a 1 cm del disco fúngico, cuatro gotas de 15 µl de un cultivo en fase exponencial de la bacteria correspondiente. Después de 10 días de incubación a 25°C y en oscuridad, se determinó el área de cada colonia y la esporulación (conidias/mm²) en cinco repeticiones de las distintas combinaciones. En cada experimento se incluyeron placas control, sin bacteria, de cada uno de los aislados de *Fs*.

Todas las cepas bacterianas inhibieron significativamente el crecimiento micelial respecto al correspondiente control; destacando de forma consistente dos cepas de *Pseudomonas*: P83 y AMG77 con porcentajes de inhibición superiores al 80 y al 65%, respectivamente. Las tres cepas restantes redujeron en más del 40% el desarrollo micelial de ambos aislados. No obstante, las cepas P83 y T302 fueron las más efectivas en la inhibición de la esporulación de los dos aislados de *Fs*. Estos resultados preliminares sugieren que la cepa P83 de *P. aeruginosa* es la que posee un mayor potencial como agente de biocontrol de *F. solani*.

Financiación: INIA RTA20013-00062-C05-02 y fondos FEDER 2014-2020: “Programa Operativo de Crecimiento Inteligente”.

EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE VARIEDADES COMERCIALES DE FRESA A *Fusarium solani*

Vela, M. D¹., Capote, N²., Melero-Vara, J. M³., Basallote-Ureba, M. J².

¹ IFAPA Centro Chipiona, Camino de Esparragosa s/n, 11550 Chipiona, Cádiz, España. mdolores.vela@juntadeandalucia.es

² IFAPA Las Torres-Tomejil, Apdo. Oficial, 41200 Alcalá del Río, Sevilla, España.

³ IAS, CSIC, Apdo. 4084, Córdoba, España.

Recientemente se han referido en el cultivo de la fresa en España plantas con síntomas de enanismo, marchitez y muerte asociados con *Fusarium solani* (*Fs*). Existe un amplio número de cultivares de fresa, pero se desconoce su comportamiento frente a *Fs*. Se ha evaluado la reacción de 11 cultivares de fresa ('Albión', 'Antilla', 'Benicia', 'Candongá', 'Fortuna', 'Primoris', 'Rábida', 'Sabrina', 'Sahara', 'San Andreas' y 'Ventana') a la inoculación con un aislado de *Fs* de probada patogenicidad. Las plantas se inocularon por inmersión durante 30 min en una suspensión de 10⁶ con/ml y se trasplantaron a macetas con un sustrato estéril. Las plantas se incubaron a 25°C y 16h de luz durante tres meses. Se evaluó el porcentaje de raíces nuevas emitidas, los estolones y frutos producidos, la proporción de corona afectada, el porcentaje de plantas muertas y el peso fresco de cada planta.

En todos los cultivares se observaron los síntomas asociados con *Fs*. Todas las plantas de 'Antilla', 'Sahara' y 'Benicia' murieron al finalizar el experimento, no así las de 'Candongá', 'Primoris' y 'San Andreas' en las que no murió ninguna planta. En la producción de raíces nuevas hubo diferencias significativas entre cultivares y entre plantas testigos e inoculadas. Las plantas inoculadas de 'Sabrina' y 'San Andreas' emitieron un número significativamente menor de raíces que las testigo. Las coronas más afectadas se observaron en 'Antilla', 'Sahara' y 'Benicia', mientras las de 'San Andreas' fueron las más sanas. Los mayores pesos frescos se determinaron en 'San Andreas', 'Candongá', 'Sabrina' y 'Primoris', y fueron más de cinco veces los de 'Sahara', y más del doble que los de 'Antilla' y 'Benicia'. En general, las plantas inoculadas tuvieron pesos más bajos que las testigos, en particular en 'Antilla', 'Primoris' y 'Candongá'.

Financiación: INIA RTA 2013-00062-C05-02 y fondos FEDER 2014-2020: "Programa Operativo de Crecimiento Inteligente".

LA BIOSOLARIZACIÓN CON DIFERENTES ENMIENDAS ORGÁNICAS REDUCE LA INCIDENCIA DE LOS PATÓGENOS DEL SUELO EN CULTIVOS DE ALCACHOFA

Martínez, V.¹, Lacasa, CM.¹, Esteban, A.¹, Fernández, P.², Ramírez, B.³, Jara, A.³, Martínez, MC.¹, Guerrero, MM.¹, Lacasa, A.¹

¹Biotecnología y Protección de Cultivos, IMIDA, C/ Mayor s/n 30150 La Alberca Murcia. alfredo.lacasa@carm.es

² Servicio de Formación y Transferencia Tecnológica OCA “Vega Alta”. Cieza. Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente. Región de Murcia

³S.A.T. N° 9890 OLÉ. C/ Mayor 140. San Bartolomé- Orihuela Alicante

En los alcachofares del Sureste peninsular se observa una reducción progresiva de las producciones asociadas a la reiteración del cultivo en los mismos suelos. *Verticillium dahliae* (Vd) y *Rhizoctonia solani* (Rs) son considerados como los principales patógenos del suelo y su incidencia varía entre comarcas y fechas. A los efectos de los patógenos se adicionan los de la fatiga del suelo por reiteración del cultivo en los mismos suelos de forma reiterada. En dos parcelas con antecedentes de incidencia de ambos patógenos, incluso en el cultivo precedente, se evaluaron las enmiendas orgánicas: i) Estiércol fresco de ovino (EFO). ii) EFO + bagazo de cerveza (BC). iii) EFO + restos cultivo brócoli (BR). iv) EFO+ cascarilla de arroz (CA) (solo en una parcela) para la biosolarización, sellando el suelo con plástico de polietileno. La desinfección se inició la última semana de junio y duró seis semanas. En la tercera semana de agosto se plantaron zuecas de la variedad Blanca de Tudela. El diseño fue de bloques al azar con 4 repeticiones por tratamiento incluido suelo sin desinfectar. El inóculo de *Verticillium* enterrado a 15 y 30 cm de profundidad en una de las parcelas se redujo el 100% en los tratamientos EFO y EFO+BC, el 98,6% en EFO+CA y el 99% EFO+BR y el inóculo natural el 100% en todos los tratamientos y parcelas. A los 4 meses de cultivo el porcentaje de plantas afectadas por *Rhizoctonia* se redujo entre el 35% (EFO+BR) y el 41% (resto de enmiendas) y al final del cultivo entre el 21% (EFO+BC) y el 45% (EFO+BR), en relación al testigo. No se encontraron plantas afectadas por *Verticillium* en una parcela y en la otra la incidencia al final del cultivo fue del 1% en todos los tratamientos. En los suelos biosolarizados la producción comercial precoz aumentó en relación al testigo en más de un 21% en una parcela y en más del 50% en la otra.

BÚSQUEDA DE LOS DETERMINANTES GENÉTICOS DEL TSWV QUE SUPERAN LA RESISTENCIA CONFERIDA POR EL GEN *Tsw* EN PIMIENTO

Costa, C.¹, Martínez, M.¹, Sáez, C.¹, Galipienso, L.², Rubio, L.², Aparicio, F.³, Darós J.A.³, López C.¹

¹ Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV-UPV), Universitat Politècnica de València, Valencia. clopez@upvnet.upv.es

² Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Moncada, Valencia.

³ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP) (CSIC-Universidad Politècnica de Valencia), Valencia.

El pimiento (*Capsicum annuum*) es uno de los cultivos hortícolas más afectados por el virus del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV). La resistencia natural proporcionada por el gen *Tsw* se ha mostrado como la estrategia más eficaz para controlar la enfermedad. Sin embargo, la utilización masiva de este gen, unido a la elevada diversidad y a la gran adaptabilidad del TSWV ha provocado la aparición de aislados que superan dicha resistencia, provocando el resurgimiento de la enfermedad. Los determinantes genéticos responsables de la superación de la resistencia se localizan en la proteína viral NSs, aunque todavía no se ha podido determinar cuáles son los aminoácidos implicados. Con ese objetivo se agroinfiltraron plantas de pimiento con la cepa silvestre de *Agrobacterium tumefaciens* 1D1249 transformada con plásmidos recombinantes portadores de diferentes versiones de la proteína NSs (silvestre o WT y *resistance breaking* o RB). Los resultados preliminares de la expresión local mediada por *A. tumefaciens* indican que cambios únicos en diferentes posiciones de la proteína NSs serían suficientes para superar la resistencia del gen *Tsw*. Sin embargo, la comprobación de estos resultados mediante expresión sistémica de las mismas proteínas con un vector viral derivado del virus del grabado del tabaco (*Tobacco etch virus*, TEV) no fue concluyente. Además, la expresión de la proteína NSs de un aislado RB indujo una clara necrosis en las venas que desencadenó el colapso y muerte de las plantas de pimiento. En este caso, la sintomatología podría estar asociada, no con la capacidad de superar la resistencia, sino con otra de las funciones atribuida a esta proteína, como es la de actuar como supresor de silenciamiento del RNA. La elevada expresión de proteína NSs podría estar secuestrando RNA interferentes endógenos de la planta, necesarios para el correcto funcionamiento de la maquinaria celular. Nuevos ensayos de expresión de la proteína NSs procedente de diferentes aislados y en diferentes fondos genéticos (plantas con y sin el gen de resistencia *Tsw*) ayudarán a esclarecer las dos funciones principales asociadas a esta proteína.

Agradecimientos al INIA y a la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto RTA2013-00047-C02-02.

LA BIOSOLARIZACIÓN CON SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES REDUCE LA INCIDENCIA DE LOS PATÓGENOS DEL SUELO EN INVERNADEROS DE PIMIENTO

Martínez, V.¹, Lacasa, CM.¹, Sánchez, F.¹, Ros C.¹, Martínez, MC.¹, Guerrero, MM.¹, Serrano-Pérez, P.², Rodríguez-Molina, MC.², Lacasa, A.¹

¹Biotecnología y Protección de Cultivos, IMIDA, C/ Mayor s/n 30150 La Alberca Murcia. alfredo.lacasa@carm.es

²CICYTEX, Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden-Valdesequera. 06187 Guadajira, Badajoz. carmen.rodriiguez@gobex.es

Se evaluó el efecto de la biosolarización (solarización con enmiendas orgánicas) utilizando torta de colza sola (TC) o bagazo de cerveza (BC) + estiércol fresco de ovino (EFO), sobre los patógenos del suelo y la incidencia de la “Tristeza” del pimiento. Los ensayos se realizaron en invernaderos del Campo de Cartagena (Murcia), con los suelos naturalmente infectados con *Phytophthora nicotianae* y *Meloidogyne incognita*. En dos invernaderos ecológicos (MSP y VJ) la biosolarización se inició en agosto, en el invernadero AT se inició en septiembre y en el invernadero K se inició en septiembre un año y en octubre al año siguiente, repitiendo en este caso los tratamientos en las mismas parcelas. En todos los invernaderos la biosolarización duró 6 semanas. El diseño experimental fue de bloques al azar con tres repeticiones, teniendo como referencia el estiércol fresco de ovino en los invernaderos MSP, VJ y AT y desinfectantes químicos (1,3-dicloropropeno+ cloropicrina y dazomet) en el K. La viabilidad y la infectividad de las oosporas de *P. capsici* y las clamidosporas de *P. nicotianae*, enterradas antes de la desinfección en el invernadero K, fueron menores o iguales a la del desinfectante químico para BC + EFO los dos años y para TC cuando se inició la biosolarización en septiembre, no encontrándose diferencias entre enmiendas en el 80% de los ensayos. El control de la “Tristeza” y de *M. incognita* fue similar o mejor que con los desinfectantes químicos para las dos enmiendas, salvo para TC en el ensayo iniciado en octubre. No se observaron efectos fitotóxicos y la vegetación de las plantas para ambas enmiendas fue similar a la del estiércol fresco de ovino. Ambas enmiendas ofrecen buenas prestaciones para el control de los principales patógenos del cultivo del pimiento en los invernaderos del Campo de Cartagena.

DIVERSIDAD DE GENOMAS MITOCONDRIALES EN *XIPHINEMA*, *LONGIDORUS* Y *PARALONGIDORUS* (NEMATODA: LONGIDORIDAE)

Palomares-Rius, J.E.¹, Cantalapiedra-Navarrete, C.¹, Archidona-Yuste, A.¹, Blok, V.C.², Castillo, P.¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004 Córdoba, España. palomaresje@ias.csic.es

² Cell and Molecular Sciences, The James Hutton Institute, Invergowrie, Dundee, DD2 5DA, United Kingdom.

Los nematodos de la familia Longidoridae (*viz.* *Longidorus*, *Paralongidorus*, y *Xiphinema*) comprenden especies fitoparásitas polífagas que pueden afectar a un gran número de plantas. El daño que causan a los diferentes huéspedes depende no sólo de su parasitismo directo sobre células epidérmicas y corticales de la raíz, sino también por la transmisión específica de virus vegetales (nepovirus). El genoma mitocondrial de nematodos fitoparásitos proporciona información esencial sobre su estructura genómica, relaciones filogenéticas e inferencias funcionales y evolutivas. Hasta la fecha, *X. americanum* era el único genoma mitocondrial secuenciado de la familia Longidoridae. En este estudio se ha secuenciado el genoma mitocondrial de 4 especies de nematodos fitoparásitos pertenecientes a esta familia, incluyendo *Xiphinema rivesi*, *Xiphinema pachtaicum*, *Longidorus vineacola* y *Paralongidorus litoralis*. Los cuatro genomas tienen un tamaño estimado de 12.6, 12.5, 13.5 y 12.8 kb, respectivamente, siendo de los más pequeños descritos en el Phylum Nematoda. Todos los genomas contienen 12 genes codificantes de proteínas (*viz.* *cox1-3*, *nad1-6*, *nad4L*, *atp6* and *cob*) y dos genes ribosómicos (*rrnL* and *rrnS*), estando ausente el gen *atp8*. La distribución génica resultó muy variable entre ellos, a excepción de *X. rivesi* y *X. americanum*, especies estrechamente emparentadas. Se identificaron 22 tRNAs en *L. vineacola*, 21 tRNAs en *X. rivesi* y *P. litoralis* (faltando mt-tRNAN), y 19 tRNAs en *X. pachtaicum* (faltando mt-tRNAN, mt-tRNAA y mt-tRNAR). Las regiones codificantes fueron muy pequeñas y estuvieron presentes en pocas posiciones dentro del genoma. Los análisis filogenéticos mostraron dos clados dentro de Longidoridae, uno incluyendo *Longidorus* y *Paralongidorus* y otro incluyendo especies de *Xiphinema*. *Xiphinema americanum* y *X. rivesi* están claramente relacionados filogenéticamente, mientras que la posición de *X. pachtaicum* no estuvo claramente definida. Estos nuevos genomas mitocondriales pueden aportar nuevos marcadores para la identificación de especies, y futuros estudios filogenéticos.

Investigación financiada por P12-AGR-1486-CICE, ArimNET_ERANET-219262-INIA, y fondos FEDER (EU).

EFICACIA DE LA DESINFECCIÓN REITERADA CON DIMETIL DISULFURO PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne* EN CULTIVOS DE TOMATE

Ros, C.¹, Hernández, MA.¹, Lacasa, CM.¹, Martínez, V.¹, Lacasa, A.¹, Gutiérrez, L.², Zanón, MJ.²

¹Biología y Protección de Cultivos, IMIDA, C/ Mayor s/n 30150 La Alberca Murcia caridad.ros@carm.es

²CERTIS Europa B.V., C/ Severo Ochoa 18 03230 Elche (Alicante) Zanon@certiseurope.com

En la Región de Murcia, el tomate es un monocultivo en los invernaderos desde hace más de 25 años. En más del 70% de los invernaderos se cultivan variedades resistente a *Meloidogyne* spp. injertadas o no en porta-injertos portadores de resistencia. En muchos invernaderos las poblaciones de *Meloidogyne* han remontado la resistencia, por lo que es habitual combinar la desinfección del suelo y la resistencia. En un invernadero enarenado, de más de 25 años de monocultivo ininterrumpido de tomate, con el suelo infestado con poblaciones de *Meloidogyne javanica* virulentas al gen Mi, se ha evaluado la eficacia desinfectante del dimetil disulfuro (DMDS), aplicado “en línea”, en el agua de riego, a 300 y 400L/ha, durante dos campañas consecutivas de cultivos, cubriendo el suelo con plástico VIF. El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones por tratamiento, teniendo como referencia la desinfección con 1,3-dicloropropeno (1,3-D) y el testigo no desinfectado. Se cultivaron plantas injertadas en un porta-injertos portador del gen de resistencia. La reducción media de las poblaciones de juveniles en las dos campañas fue similar a la del 1,3-D (DMDS 300, 94,1%; DMDS 400, 94,1%; 1,3-D, 97,7%). Las prestaciones para el cultivo proporcionadas por DMDS a ambas dosis fueron similares a las del 1,3-D: i) similar índice de agallas en las raíces al mes, a los cuatro meses de la plantación y al final del cultivo (9 meses), suponiendo una reducción de los daños respecto al testigo del 80%, del 50% y del 19%, respectivamente. ii) similar porcentaje de plantas infestadas a lo largo del cultivo, no superando el 50% hasta el segundo mes en la primera campaña y hasta el quinto en la segunda, mientras en el testigo fue superior al 80% desde el primer y el segundo mes de ambas campañas. iii) similar cosecha comercial (21,6 Kg/m² en DMDS 300), aumentando más de un 40% en relación al testigo (15,3 kg/m²).

EVALUACIÓN DE LA ALTERNANCIA DE FUENTES DE RESISTENCIA GENÉTICA PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* EN INVERNADEROS DE PIMIENTO

Sánchez, F.¹, Martínez, V.¹, Lacasa, CM.¹, Guerrero, MM.¹ Hernández, A.¹, Sánchez, E.², Gomaríz, J.², Torres, J.¹, Ros, C.¹, Lacasa, A.¹

¹Biotecnología y Protección de Cultivos, ²Departamento de Horticultura IMIDA, C/ Mayor s/n 30150 La Alberca, Murcia. alfredo.lacasa@carm.es

En los invernaderos de pimiento (*Capsicum annuum*) del Campo de Cartagena, *Meloidogyne incognita* es uno de los principales patógenos del suelo. El empleo de resistencias genéticas se contempla como un método eficaz de control del nematodo. Sin embargo, al reiterar en el mismo suelo el cultivo de porta-injertos portadores del gen *Me3* emergen poblaciones capaces de remontar la resistencia conferida por dicho gen, por lo que es necesario sean establecidas estrategias de manejo durable de las resistencias. Se evaluó la incidencia de *M. incognita* sobre diferentes fuentes de resistencia cuando su cultivo fue alternado o reiterado. Las evaluaciones llevadas a cabo en dos invernaderos comerciales ambos contaminados naturalmente con *M. incognita* y en uno de ellos virulenta al gen *Me3*, mostraron que el cultivo de plantas resistentes (portadores de los genes *Me1* y *Me3*) durante una campaña junto a la posterior desinfección del suelo disminuyó la incidencia del patógeno en el cultivo de plantas susceptibles de la siguiente campaña. En un tercer invernadero contaminado con una población del nematodo en proceso de selección de virulencia frente al gen *Me3*, tras tres años de reiteración en el mismo suelo de diferentes fuentes de resistencia, la portada por 'Costal' permaneció estable, y las conferidas por los genes *Me1* y *Me3* mostraron más prestaciones cuando se encontraron en fondos genéticos de resistencia cuantitativa. La alternancia en el uso de fuentes de resistencia no supuso una ventaja respecto a la reiteración de las mismas, aunque su combinación con otras técnicas de control y/o su aplicación en otros invernaderos con poblaciones avirulentas del nematodo podría resultar más eficaz.

EVALUACIÓN DE *Trichoderma* spp. FRENTE A *Rhizoctonia solani* EN EL CRECIMIENTO DE LA PLANTA DE JUDÍA.

Mayo, S.¹; Rodríguez-González, A.¹; González-López O.¹; Lorenzana, A.¹; Carro, G.¹; Campelo, M.P.¹; Gutiérrez, S.²; Casquero, P.A.¹

1. Grupo de Investigación de Ingeniería y Agricultura Sostenible. Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad, Universidad de León Av. Portugal 41, 24071 León, España. smayp@unileon.es; pedro-casquero@unileon.es

2. Área de Microbiología, Escuela Superior y Técnica de Ingeniería Agraria, Universidad de León, Campus de Ponferrada, Av. Astorga s/n, 24401 Ponferrada, España.

La alubia o judía grano (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas de grano, dedicadas al consumo humano, más importantes, ya que su cultivo se extiende por todos los continentes. Se ve afectada por numerosas micosis, siendo una de las más frecuentes en la provincia de León la causada por *Rhizoctonia solani* que afecta a la alubia en sus primeros estadios de desarrollo. En los últimos años el Grupo de Investigación de Ingeniería y Agricultura Sostenible de la Universidad de León ha ensayado agentes de biocontrol que protejan a la planta en los primeros estadios de desarrollo. *Trichoderma* es un hongo que está presente en la rizosfera, oportunista, simbiote no virulento con la planta y parásito y antagonista de muchos hongos fitopatógenos, con lo que podría proteger a la planta de distintas enfermedades. El objetivo de este trabajo fue comprobar la capacidad de biocontrol *in vivo* de 15 aislamientos de *Trichoderma* spp. frente al patógeno *R. solani* evaluando el diámetro del hipocotilo, la longitud de la raíz así como los pesos húmedo y seco de las plantas de alubia tras 45 días de la siembra. Se comprobó que en los parámetros del diámetro del hipocotilo, la longitud de la raíz y peso seco del sistema radicular no se encontraron diferencias significativas respecto al control. Sin embargo en los pesos húmedo y seco de la parte aérea así como el peso húmedo del sistema radicular se observó un incremento significativo respecto al control de 63.96 %, 53.77 % y 96.95 % respectivamente en aquellas plantas inoculadas con el aislamiento T019, que corresponde a la especie *T. harzianum*. Incluso cuando se encuentra presente *R. solani* no se produce una disminución significativa respecto al control de los parámetros antes mencionados.

MARCADORES VISUALES DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE PLANTAS BASADOS EN LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS COLOREADOSMajer, E.¹, Llorente, B.², Rodríguez-Concepción, M.², Darós, J.A.¹¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-Universidad Politécnica de Valencia), Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, España. jadaros@ibmcp.upv.es² Centre for Research in Agricultural Genomics (CRAG), CSIC-IRTA-UAB-UB, 08193 Barcelona.

La utilización de genes reporteros marcadores de la infección es una estrategia muy valiosa en la investigación de las infecciones virales de las plantas. A pesar de sus ventajas, algunos de los marcadores reporteros más utilizados también tienen sus limitaciones, como son la necesidad de infiltrar un sustrato en el tejido ensayado, caso de la beta-glucuronidasa, o la necesidad de utilizar instrumentación compleja, como ocurre con las proteínas fluorescentes. En nuestro trabajo reciente, hemos desarrollado un sistema reportero que permite el seguimiento visual de las infecciones virales. El sistema se basa en la expresión viral del factor de transcripción Rosea1 de *Antirrhinum majus* que induce la biosíntesis de antocianinas en los tejidos infectados. Las antocianinas son pigmentos flavonoides responsables de muchos de los vívidos colores de flores y frutos en las plantas. La acumulación de antocianinas, que puede seguirse a simple vista, se produce exclusivamente en los tejidos infectados. Además, la cantidad de antocianinas en estos tejidos correlaciona con la carga viral. Sin embargo, puesto que el sistema depende de una ruta endógena de la planta, no es universal. Solo funciona en aquellas especies capaces de producir antocianinas coloreadas como respuesta a la expresión viral de Rosea1. Nuestra reciente investigación en ingeniería metabólica de carotenoides utilizando un vector derivado del virus del grabado del tabaco (TEV, género *Potyvirus*) nos ha permitido observar que la sola expresión de la fitoeno sintasa (crtB) de la bacteria del suelo *Pantoea ananatis* provoca una notable activación de la ruta endógena de los carotenoides en el tejido infectado. La acumulación de carotenoides coloreados como el beta-caroteno o la luteína, unida a la típica disminución de clorofilas, conduce a una vistosa coloración amarilla del tejido infectado. Para analizar si la crtB de *P. ananatis* podría ser un nuevo marcador visual de las infecciones virales en plantas que complemente a Rosea1, construimos clones recombinantes del TEV, el virus del mosaico del tabaco (genero *Tobamovirus*) y el virus X de la patata (genero *Potexvirus*) que expresaban esta enzima. Con estos clones inoculamos plantas y comprobamos la inducción de una intensa pigmentación amarilla en huéspedes como *Nicotiana benthamiana*, *N. tabacum*, tomate o *Arabidopsis thaliana*. También construimos un clon recombinante del virus del mosaico amarillo del calabacín (genero *Potyvirus*) que infecta cucurbitáceas, una familia de plantas que no tienen la ruta completa de las antocianinas y en las que el marcador Rosea1 no funciona. Los resultados mostraron una fuerte pigmentación amarilla del tejido infectado de calabacín, demostrando que crtB es un marcador visual más general que Rosea1.

DETECCIÓN DE PATÓGENOS MEDIANTE CIRCUITOS REGULADORES EN PLANTAS

Cordero, M.T.¹, Rosado, A.¹, Carbonell, A.¹, Aragonés, V.¹, Monzó, I.¹, Jaramillo, A.², Rodrigo, G.¹, Darós, J.A.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-Universidad Politécnica de Valencia), Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, España. jadaros@ibmcp.upv.es

² School of Life Sciences, University of Warwick, Coventry CV4 7AL, Reino Unido; and iSSB, Genopole, CNRS, UEVE, Université Paris-Saclay, Évry, France.

La detección precoz de patógenos en plantas facilita una rápida actuación para tratar de minimizar las pérdidas en los cultivos agrícolas. Los métodos actuales de detección de patógenos de plantas se basan principalmente en técnicas *in vitro* de biología molecular, como son los inmunoensayos, la hibridación molecular o la amplificación por PCR y RT-PCR. Se trata de técnicas laboriosas, caras y difíciles de escalar. Uno de los objetivos de nuestras investigaciones en los últimos tiempos ha sido desarrollar un nuevo sistema para la detección de patógenos en planta entera. El sistema se basa en la expresión transitoria en plantas de circuitos de regulación sintéticos a través de cepas bacterianas desarmadas. Las señales que desencadenan la activación de nuestros circuitos reguladores son la presencia de RNAs o proteínas derivados del patógeno, por lo que son altamente específicos para cada patógeno. En nuestros circuitos, estas moléculas derivadas del patógeno inducen la degradación de elementos reguladores como RNAs o proteínas represores que controlan la expresión de genes reporteros, los cuales inducen la producción de metabolitos coloreados en el tejido ensayado. Además de la detección visual, los metabolitos coloreados se pueden extraer muy fácilmente del tejido ensayado y cuantificarse mediante una simple medida colorimétrica. La combinación de distintos elementos en los circuitos permite llevar a cabo cálculos lógicos en presencia de uno o múltiples patógenos.

EFFECTS OF SIMULTANEOUSLY ELEVATED TEMPERATURE AND CO₂ LEVELS ON INFECTIONS BY DIFFERENT POSITIVE-SENSE RNA VIRUSES OF A COMMON HOST; A PROCEDURE TO COMPARE VIRAL LEVELS BETWEEN PLANTS GROWN UNDER AMBIENT CONDITIONS THAT AFFECT THEIR SIZE DIFFERENTLY

Del Toro, F.¹, Rakhshandehroo, F.², Larruy, B.¹, Aguilar, E.¹, Tenllado, F.¹, Canto, T.¹

¹ Departament of Environmental Biology, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB-CSIC). Ramiro de Maeztu 9, 28040, Madrid, Spain. tomas.canto@cib.csic.es

² Department of Plant Pathology, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, P. O. Box 14515-775. Tehran, Iran.

In a recent report we assessed separately the effects of elevated temperature or of elevated (\uparrow) CO₂ levels on the systemic infection of *Nicotiana benthamiana* plants by different positive-sense RNA viruses (CMV, PVY, and PVX-based vector, either empty or expressing the suppressors of silencing of CMV or PVY). We found that those effects were specific to each virus, but appeared unrelated to the ability to their suppressors to neutralize silencing under those altered conditions (del Toro et al., 2015. PLoS One10(8): e136062.doi: 10.1371/journal.pone.0136062). We have now tested those infections when both environment conditions were altered simultaneously, and found them again to be virus-specific: CMV continued to show an increase in viral accumulation, but negative environment effects were additive for PVY, with systemic titers plummeting over 80% and an absence of symptoms, while the outcomes of infection by the PVX constructs ranged somewhere in-between.

On the other hand, \uparrow CO₂ caused plants to become larger, but we found that although leaves became almost double the size of the equivalent ones grown at standard conditions they retained the same total amount of protein, and also the same number of epidermal cells. Therefore, in discs from leaves grown under \uparrow CO₂ levels there were fewer, larger cells than in those from leaves grown under standard conditions, and the actual amount of virus in individual cells (or as a proportion of total protein) would be underrepresented in the former if directly measured from leaf disc extracts. We thus applied a normalizer considering the individual cell/total protein data, in order to compare more accurately viral titers between plants that under the different CO₂ conditions have their sizes affected.

ENSAYO DE EFICACIA DE PRODUCTOS PARA EL CONTROL DE AMARILLOS EN ZANAHORIA

Perera-González, S.¹; Molina-Hernández, J.², Siverio de la Rosa, F³

¹ Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife, C/ Alcalde Mandillo Tejera, 8, 4º, 38007 Santa Cruz de Tenerife

² La Limera S.L., C/ Calvo Sotelo, 15, 38280 Tegueste.

³ Departamento de Protección Vegetal, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA), Ctra. El Boquerón, s/n, 38270 Valle de Guerra, La Laguna. E-mail. fsivros@gobiernodecanarias.org.

En Tenerife, *Bactericera trigonica* es la plaga más importante del cultivo de la zanahoria debido a la transmisión de '*Ca. Liberibacter solanacearum*' y de fitoplasmas, que causan la enfermedad llamada amarillos y enrojecimientos de la zanahoria. Desde 2012 se tiene la primera referencia de la bacteria '*Ca. L. solanacearum*' asociada a zanahorias y a *B. trigonica* en las Islas Canarias donde produce en la actualidad pérdidas importantes en el cultivo. No hay productos que permitan el tratamiento directo de '*Ca. L. solanacearum*', por lo que su control se lleva a cabo actuando sobre el vector mediante insecticidas químicos, aunque no existan estudios que lo respalden. Este trabajo evalúa la eficacia de diversos productos en el control de amarillos en zanahoria transmitidos por la psila de la zanahoria (*B. trigonica*). Se probaron: clorpirifos, deltametrina, azadiractina, pirimicarb, piretrinas, caolín y extracto de ajo. El diseño del ensayo fue en bloques al azar con 8 tratamientos y 4 repeticiones, utilizando como unidad experimental una bandeja multipot en la que se desarrollaron 16 plantas. El ensayo se situó en una parcela próxima a cultivos de zanahorias afectados por amarillos típicos de '*Ca. L. solanacearum*'. Las aplicaciones de los productos se realizaron cada diez días y se efectuaron un total de ocho. Al final del ensayo se registró el peso de las zanahorias y se observó la presencia/ausencia de síntomas. El tratamiento con caolín permitió el mejor desarrollo de las zanahorias que presentaron un peso promedio superior al del resto de los tratamientos y 2,3 veces el del control. También fue el más eficaz en la reducción de síntomas, destacando la reducción de 60%, 37% y 76,1%, en amarillos, multibrotaciones y acucharados, respectivamente.

DETECCIÓN DE *Phytophthora nicotianae* Y *Geotrichum* sp. ASOCIADOS A PODREDUMBRES DEL COGOLLO EN PIÑA TROPICAL

Rodríguez-Padrón, C.¹, Siverio de la Rosa, F.²

¹ GMW Bioscience y Agricultural Services, S.L. Avenida de Valencia, 39. 46611 Benimuslem, Valencia.

² Dpto. Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Apdo. 60, 38200 La Laguna, Tenerife. E-mail: fsivros@gobiernodecanarias.org

Se recogieron nueve muestras de piña tropical con síntomas de podredumbre del cogollo de cuatro parcelas de cultivo de la isla de El Hierro. En dos de estas parcelas se obtuvieron aislados de la especie *Phytophthora nicotianae*, descrita como causante de dicha enfermedad, y en una tercera se pudieron detectar hifas de *Phytophthora* sp. en las siembras en medio de cultivo sólido, aunque no se pudo aislar el patógeno. De todas las muestras analizadas se aisló consistentemente y de forma dominante *Geotrichum* sp. Los aislados obtenidos se caracterizaron morfológicamente y se identificaron mediante técnicas moleculares. Con uno de los aislados de *P. nicotianae* se llevaron a cabo ensayos de patogenicidad con dos variedades de Piña tropical (roja española y MD2), en dos soportes de ensayo (solución nutritiva y turba), con dos variantes en el ensayo en turba (con y sin inundación periódica), para poner a punto el procedimiento y garantizar que se reproducían los síntomas en las plantas inoculadas. Los resultados obtenidos indican que existen diferencias entre las dos variedades frente a *P. nicotianae*. La variedad roja española mostró mayor resistencia al desarrollo de la enfermedad en presencia del patógeno que la variedad MD2 y, por tanto, la variedad MD2 resultó ser la más adecuada para ensayos destinados a evaluar la eficacia de productos fitosanitarios destinados a su control. Los resultados indican que son necesarios riegos por inundación (1 día por semana) para que se desarrollen síntomas. Los ensayos en solución nutritiva inoculada permitieron el desarrollo de síntomas característicos en la base de las hojas. *Geotrichum* sp. parece el principal saprofito invasor asociado a la pudrición subsecuente al ataque de *P. nicotianae* y responsable del olor característico del tejido afectado por la enfermedad.

Este trabajo ha sido realizado en el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias mediante un convenio de colaboración con GMW Bioscience y Agricultural Services, S.L.

CHARACTERIZATION OF AN UNCLASSIFIED MYCOVIRUS FROM *Verticillium dahliae* AND ANALYSIS OF ITS TRANSMISION BETWEEN DEFOLIATING AND NON-DEFOLIATING ISOLATES

Cañizares, M.C.¹, Ostos, E.², López-Escudero, F.J.², Pérez-Artés, E.³, García-Pedrajas, M.D.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”- Universidad de Málaga - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Estación Experimental “La Mayora”, 29750 Algarrobo-Costa, Málaga, Spain. carmen.canizares@eelm.csic.es

² Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071 Córdoba, Spain.

³ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, IAS-CSIC, Alameda del Obispo s/n., 14004 Córdoba, Spain.

The soilborne pathogen *Verticillium dahliae* causes vascular wilts in a wide variety of crops. Isolates infecting olive can be classified into defoliating (D) or non-defoliating (ND). The spread of the D pathotype have greatly increased the impact of this disease on olive production. Fungal viruses (mycoviruses) from pathogenic species have potential as biocontrol agents as some reduce the virulence of their fungal host. The successful application of micoviruses to the control of fungi is dependent on their efficient transmission among isolates in natural fungal populations. Mycoviruses are thought to be transmitted horizontally mainly between somatically compatible isolates during hyphal anastomosis. In *V. dahliae* all D isolates belong to the same VCG while ND isolates conform different VCGs. In our aim to explore the potential of mycovirus to control *Verticillium* wilt, we have tested 200 isolates of *V. dahliae* from different areas of the Guadalquivir Valley and sampled in different years, revealing that only three exhibited viral infection. All three isolates harbored the same unclassified mycovirus with similarity to plant viruses of the family *Tombusviridae* which we designated VdUV1. Intriguingly, the VdUV1-infected isolates did not belong to the same VCG; two were ND and one D. An analysis of VdUV1 transmission by hyphal anastomosis using hygR-tagged D and ND recipient isolates showed that, as expected, it was readily transmitted among isolates of the same VCG while somatic incompatibility generally acted as a barrier for this transmission. However, we also found that the presence of “bridge” isolates can add complexity to this simple scenario. Thus, the two ND isolates transmitted VdUV1 only to other compatible ND isolates. By contrast the VdUV1-infected D isolate transmitted it to both D and ND isolates, although with clearly different efficiencies, 100% and 30%, respectively. Currently, we are investigating the putative effect of VdUV1 in virulence.

TRANSCRIPTOMA HAUSTORIAL DE *Podosphaera xanthii*. RETOS EN MUESTRAS DE DIFÍCIL AISLAMIENTO Y ARN DEGRADADO

Polonio, A., Martínez-Cruz, J., de Vicente, A., Pérez, A.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”-Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Bulevar Louis Pasteur 31, 29010, Málaga. E-mail: polonio@uma.es

El cultivo de las cucurbitáceas en España se ve afectado, entre otros, por el biotrofo obligado *Podosphaera xanthii*, principal agente causal del oídio de las cucurbitáceas. Este hongo, que requiere células vegetales vivas para completar su ciclo de vida asexual, desarrolla unas estructuras especializadas de parasitismo denominadas haustorios. Los haustorios se desarrollan dentro de las células epidérmicas y son responsables de la relación directa entre el patógeno y el huésped a través de la absorción de los nutrientes de la planta y la liberación de efectores. La realización de un transcriptoma haustorial y la definición de su secretoma nos ayudará a conocer mejor los mecanismos de patogénesis de *P. xanthii*. Esto nos ha llevado a desarrollar un método eficaz de aislamiento de haustorios y un protocolo de creación de librerías de cDNA para muestras de ARN degradado, así como un análisis bioinformático adaptado para ensamblar *de novo* un transcriptoma con estas características. Mediante citometría de flujo hemos conseguido aislar haustorios de *P. xanthii* sin apenas contaminantes. Además, a partir de RNA haustorial de baja calidad, hemos construido librerías de cDNA mediante la combinación de una amplificación por oligos dT y cebadores al azar, seguida de una eliminación parcial de las secuencias ribosomales. La secuenciación del transcriptoma se llevó a cabo mediante la plataforma NextSeq550 (Illumina), obteniéndose un alto número de lecturas. En estos momentos estamos realizando el ensamblaje de transcritos y la anotación de los mismos mediante un abordaje bioinformático que combina softwares de distinto tipo. Esperamos poder identificar un elevado número de efectores candidatos que nos permita la identificación de genes clave para la patogénesis de *P. xanthii* mediante estudios de genómica funcional.

Este trabajo ha sido financiado por ayudas del Plan Nacional de I+D+I del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2013-41939-R), cofinanciado con fondos FEDER (UE).

CONSTRUCTION OF AN INFECTIOUS CLONE OF *Bean rugose mosaic virus* USING ONE-STEP GIBSON ASSEMBLY

Bijora, T.¹, Nagata, T.², Blawid, L.², Souto, E. R.¹

¹ Universidade Estadual de Maringá – UEM, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá - Paraná, Brasil. taisebi16@hotmail.com

² Universidade de Brasília – UnB, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900, Brasília – DF, Brasil.

Bean rugose mosaic virus (BRMV) is a *Comovirus* that affects bean and soybean cultures which can cause yield losses up to 59% in some conditions, first reported in bean plants from Costa Rica in 1972. The virus has a bipartite RNA genome with a VPg and a poly(A) tail linked to its 5' and 3' ends, respectively. Studies about plant-virus interactions includes reverse genetic, where the construction of infectious clones is vital, as well as it is for applications such as its use as vectors either for expression of foreign genes or in virus induced gene silencing. This work purposed the construction of a BRMV infectious clone based on Gibson Assembly (GA) technique, a novel cloning procedure that includes three enzymes (a nuclease, a polymerase and a ligase) in a one-step isothermal reaction, using a small binary vector. Total RNA was extracted from bean plants cv. Rio Tibagi infected with BRMV Parana isolate and a RT-PCR was performed with primers containing sequences overlapping with pJL89 binary vector, which was also prepared by PCR with primers amplifying the ribozyme and CaMV 35S promoter regions. The purified PCR products were assembled in the isothermal GA reaction following the standard protocol. The restriction enzyme analysis of obtained clones showed the presence of fragments with the expected size in transformed *Escherichia coli*, confirmed by complete sequencing of the selected clones. Bean plants infiltrated by *Agrobacterium tumefaciens* transformed with selected clones showed mild symptoms (mild mosaic and plant size reduction). The presence of the virus in agro-inoculated bean plants was proved by positive RT-PCR reactions from seven to twenty days post inoculation. The virulence was milder when compared to plants mechanically inoculated with original BRMV isolate, maybe due to the selection of milder haplotype or mutation induced during PCR steps.

UN MODELO PARA ESTIMAR LA DINÁMICA DE LAS ASCOSPORAS DE *Mycosphaerella nawae* EN LA HOJARASCA DE CAQUI EN CONDICIONES DE CLIMA MEDITERRANEO

Martínez-Minaya, J.¹, Mira J.L.¹, López-Quílez A.², Conesa D.², Vicent A.¹

¹ Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada 46113, Valencia, Spain. avicent@ivia.es

² Departament d'Estadística i Investigació Operativa, Universitat de València. Burjassot 46100, Valencia, Spain.

La mancha foliar del caqui, causada por *Mycosphaerella nawae*, estuvo restringida durante décadas a las zonas húmedas de Japón y Corea. La enfermedad apareció por primera vez en España en 2008, siendo la primera cita de *M. nawae* en una zona de clima semiárido. El patógeno se reproduce principalmente mediante ascosporas, que se forman dentro de pseudotecios en las hojas afectadas caídas al suelo. Las ascosporas evolucionan en la hojarasca durante los meses de invierno, alcanzando su estado de madurez con el aumento de las temperaturas en primavera. Las recomendaciones de aplicación de fungicidas se realizan teniendo en cuenta la disponibilidad de inóculo en la hojarasca, a partir de conteos de ascosporas en el microscopio que suponen un elevado consumo de recursos. Para poder estimar la dinámica del inóculo de *M. nawae* de una forma más eficiente, en este estudio se desarrolló un modelo predictivo basado en las condiciones climáticas. Para ello se tomaron semanalmente muestras de hojarasca afectada durante los años 2010 a 2015 en seis parcelas de caqui 'Rojo Brillante'. La extracción de las ascosporas de *M. nawae* se realizó introduciendo las muestras de hojarasca, previamente humedecidas, en un túnel de viento. Las ascosporas liberadas se recogieron en portaobjetos y se contaron bajo el microscopio. La proporción de ascosporas liberadas respecto al total anual se relacionó con las covariables climáticas mediante modelos jerárquicos bayesianos, que incluían funciones no lineales Gompertz y logística. Los resultados mostraron que la covariable que mejor describía la dinámica de la proporción de ascosporas de *M. nawae* liberadas fue los grados día acumulados. La capacidad predictiva del modelo se evaluó satisfactoriamente con datos independientes de conteos de ascosporas de dos parcelas que no se utilizaron en el desarrollo del modelo. RTA2013-00004-C03-02 FEDER.

IMPLICACIÓN DE DISTINTAS QUITÍN SINTASAS DEL PATÓGENO DE FRUTOS CÍTRICOS *Penicillium digitatum* EN LA INTEGRIDAD DE SU PARED CELULAR, VIRULENCIA Y SENSIBILIDAD A COMPUESTOS ANTIFÚNGICOS.

Gandía, M., Marcos, J. F.

Departamento de Biotecnología, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Avenida Agustín Escardino 7, 46980 Paterna, Valencia, España. jmarcos@iata.csic.es.

Penicillium digitatum es el principal patógeno postcosecha de frutos cítricos y causa la podredumbre verde. Es responsable de importantes pérdidas económicas en todo el mundo, destinándose numerosos esfuerzos y recursos a su control. Uno de los componentes específicos de la pared celular de los hongos es la quitina, que se considera una diana potencial para el desarrollo de nuevos compuestos antifúngicos. La quitina se sintetiza por una familia compleja de quitín sintasas (Chs), que se pueden agrupar en 8 clases distintas dentro de 3 divisiones diferentes. En estudios previos, nuestro grupo identificó 8 genes quitín sintasa diferentes en *P. digitatum* agrupados en siete de las clases existentes. Estos genes se expresaron de forma diferencial durante el crecimiento en distintos medios de cultivo y durante la infección de frutos cítricos. Con el fin de determinar el papel que juegan las distintas quitín sintasas en la biología del hongo, hemos caracterizado funcionalmente tres de ellas pertenecientes a las clases II, V y VII mediante la generación de mutantes nulos de los genes correspondientes por transformación genética de *P. digitatum* mediada por *Agrobacterium tumefaciens* (ATMT). Los mutantes $\Delta chsII$ no presentaron diferencias destacables con la cepa parental silvestre, salvo en la producción y morfología de sus conidios. En cambio, los mutantes en las clases V y VII -que son las únicas Chs que contienen dominios del tipo motor miosina- mostraron importantes alteraciones en su pared celular, contenido en quitina, morfología del micelio y conidiogénesis, y una disminución de su virulencia sobre cítricos. Ambos fueron más sensibles a fungicidas comerciales pero no presentaron diferencias en su sensibilidad a distintos tipos de péptidos antifúngicos. El mutante $\Delta chsVII$ presentó resistencia más marcada a la Nikomicina Z, un antifúngico inhibidor de la biosíntesis de quitina.

QUIMIORRECEPTORES DE *Dickeya dadantii* Y *Pseudomonas syringae* IMPLICADOS EN LA INFECCIÓN

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

¹ Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas. Universidad Politécnica de Madrid (UPM) - Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Campus Montegancedo UPM 28223-Pozuelo de Alarcón (Madrid), Spain. jeanpaul.cerna.vargas@alumnos.upm.es

²Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM, 28040-Madrid, Spain

La quimiotaxis permite a la bacteria desplazarse hacia un entorno óptimo en respuesta a una señal química. En el caso de bacterias fitopatógenas, les permite explorar la superficie de la planta en busca de posibles sitios de entrada y con ello producir enfermedad en la planta. Los quimiorreceptores constituyen el núcleo sensor de la quimiotaxis. Estas proteínas presentan, entre otros, un dominio sensor al que se une el ligando que reconoce (LBD por sus siglas en inglés). En este trabajo hemos analizado el papel de tres posibles quimiorreceptores en la quimiotaxis durante la infección, concretamente en la entrada hacia el apoplasto de la planta. Para ello primero hemos realizado una búsqueda bioinformática de posibles quimiorreceptores que detecten compuestos producidos por la planta como respuesta a una herida tanto en el genoma de *Dickeya dadantii* Dd3937 (Dd3937) como en el de *Pseudomonas syringae* pv tomato DC3000 (PsPto). De todos los identificados hemos elegido 3 candidatos para llevar a cabo con ellos estudios más exhaustivos. Estos posibles quimiorreceptores estarían implicados en la percepción de ácido jasmónico, xilosa y ácido γ -Aminobutírico (GABA). Los dos primeros están presentes en Dd3937 y el tercero en PsPto. Hemos desarrollado ensayos cualitativos y cuantitativos para evaluar la quimiotaxis hacia estos compuestos de la cepa silvestre y de los correspondientes mutantes. A través de ensayos de cambio térmico de los LBD recombinante purificados, hemos analizado la especificidad de unión con los respectivos ligandos. Por último, hemos analizado el impacto de las mutaciones en los quimiorreceptores en la primera etapa de la infección en plantas. Nuestros resultados indican un papel central de estos quimiorreceptores en las primeras etapas de la infección.

CHANGES IN PLANT HORMONES, PHENOLICS AND LIGNIN INDUCED BY PO212 LEAD TO RESISTANCE TO *Fusarium oxysporum* IN TOMATO

Larena, I.¹, Herranz, Y.¹, Flors, V.², Lois, M.³, García, T.³, Bernal A.³, Díaz, J.³,

¹INIA, Ctra. de A Coruña, km 7.5, 28040 Madrid, Spain.

²Metabolic Integration and Cell Signaling Group, Plant Physiology Section, Department of CAMN, Universitat Jaume I, Avd Vicente Sos Baynat, Castellón E-12071, Spain.

³Grupo de Investigación de Fisioloxía e Aplicacións das Plantas (FISAPLANT), Departamento de Bioloxía Animal, Bioloxía Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, Campus de A Coruña, 15071 A Coruña, Spain. josefv@udc.es

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* (FOL) is a soil-borne pathogen causing Fusarium wilt in tomato plants. The soil-borne fungus, *Penicillium rubens* strain 212 (PO212), is an effective biocontrol agent against Fusarium wilt in tomato and other pathosystems. In the present study we have characterized some of the modes of action of this biocontrol agent in tomato. We have studied the levels of plant hormones, phenolics and lignin in the roots of plants treated with PO212 and inoculated with FOL, in comparison with non-treated and/or non-inoculated controls. Salicylic acid showed a decrease in plants inoculated with FOL regardless they were treated with PO212 or not. Jasmonoyl-isoleucine levels decreased both before and after inoculation with FOL in the plants treated with PO212. Abscisic acid levels decreased before inoculation in the roots of plants treated with PO212, but after inoculation with FOL, the low levels of the hormone were only detected in the inoculated plants. Total phenolics were lower in the PO212-treated plants only before FOL inoculation, as it was observed for caffeic acid. However, chlorogenic acid increased in PO212-treated plants after inoculation with FOL. In vitro assays of FOL growing in PDA amended with chlorogenic acid showed a moderate fungicide activity of this phenolic acid. Lignin increased in PO212-treated plants before inoculation with FOL. Assays with cell suspensions of tomato and pepper will be carried out in order to get a deeper insight of the plant response to PO212.

Research supported by grants RTA2013-00060-C05-01 and RTA2013-00060-C05-02 from Ministerio de Economía y Competitividad-INIA co-financed with FEDER funds from the European Union.

AN EXTRACT OF *Moringa oleifera* INDUCES RESISTANCE IN BEAN AGAINST *Botrytis cinerea* AND SHOWS FUNGICIDE ACTIVITYIglesias, M.¹, Bernal A.¹ Díaz, J.¹,

¹ Grupo de Investigación de Fisioloxía e Aplicacións das Plantas (FISAPLANT), Departamento de Bioloxía Animal, Bioloxía Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, Campus de A Coruña, 15071 A Coruña, Spain. josefv@udc.es

Botrytis cinerea Pers.:Fr. is a pathogenic fungus that causes rot diseases to more than 200 plants and is a model necrotroph pathogen. *Moringa oleifera* is a tropical plant that has several biochemical compounds that are useful in plant nutrition and medicine. However, there is limited knowledge about the potential of this plant in plant disease control. The aim of this research was to explore the properties of *Moringa oleifera* alcoholic extracts for plant protection. We found that the extracts showed a moderate but significant fungicide activity against *B. cinerea*. in petri dish assays. Furthermore, we applied the extract, diluted in distilled water, to the leaves of bean plants (*Phaseolus vulgaris*), and 24 h later we inoculated the leaves with *B. cinerea*. 72 h after challenge inoculation, we observed a reduction of 45.65% of the diseased area by *B. cinerea*. This result is difficult to explain only according to the fungicide activity of the extract, suggesting that the extract also induced resistance in bean. The activity of an enzyme (peroxidase) related to plant resistance to pathogens will be measured in bean leaves treated with the Moringa extract. Moreover, the content of phenolics in the Moringa extract will be determined, as well as the peroxidase activity in the Moringa plant.

BENZYLAMINOPURINE PROTECTS PLANTS AGAINST *Botrytis cinerea* AND *Phytophthora capsici* AND SHOWS FUNGICIDE ACTIVITY

Rey, C.¹, Cotelo, M.¹, Pardiño, C.¹, García, T.¹, Lois, M.¹, Veloso, J.¹, Díaz, J.¹

¹ Grupo de Investigación de Fisioloxía e Aplicacións das Plantas (FISAPLANT), Departamento de Bioloxía Animal, Bioloxía Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, Campus de A Coruña, 15071 A Coruña, Spain. josefv@udc.es

Botrytis cinerea and *Phytophthora capsici* are both pathogens that causes rot and wilt diseases in different crops. Benzylaminopurine (BAP) is a cytokinin that is used in agriculture as a plant growth regulator. In this study, we explored the ability of BAP to protect bean (*Phaseolus vulgaris*) and *Zinnia elegans* against *Botrytis cinerea*, as well as bean against *Phytophthora capsici*. The severity of the diseases was measured as the diameter of lesions, and this was reduced in leaves treated with BAP in all the cases, namely a 23.8% in bean against *P. capsici*, a 10.6% in bean against *B. cinerea* and a 18.2% in *Zinnia* against *B. cinerea*. The treatment with BAP in bean caused a decrease in the content of soluble phenolics, but an increase in peroxidase activity. β -1,3-glucanase and chitinase were also measured in bean. In *Zinnia*, the levels of β -1,3-glucanase and chitinase were not affected by BAP treatment, but a gene coding for a basic peroxidase was induced. On the other hand, BAP showed a fungicide activity against *B. cinerea* similar to Pyrimethanil, a well-known commercial fungicide. The ED₅₀ for BAP against *B. cinerea* was 85.5 μ M. Pyrimethanil is usually considered to cause its effect by inhibiting the biosynthesis of methionine in *B. cinerea*. However, methionine supply did not abolish the fungicide effect of BAP, pointing to a different mode of action. Our results suggest a possible role of BAP in the regulation of plant resistance, as well as a promising fungicide activity, that could be useful in agriculture.

APARICIÓN DE PLANTAS DE FRESA AFECTADAS DE FUSARIOSIS VASCULAR EN CULTIVOS EN SUELO EN LA PROVINCIA DE HUELVA (ESPAÑA)

Avilés M.¹, Bascón J.², Orta M.S.², Gómez A.¹, Borrero C.¹

¹ Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla, Ctra. Utrera, km 1, 41013, Sevilla, España. aviles@us.es

² Laboratorio de Producción y Sanidad Vegetal, Ctra. Punta Umbría-Cartaya, km 12, 21459, Cartaya, Huelva, España.

La Fusariosis vascular asociada a *Fusarium oxysporum* apareció publicada como enfermedad en cultivos sin suelo de fresa en Huelva en 2009. No obstante, hasta el inicio de la campaña fresera 2014/15 no hemos tenido constancia de plantas enfermas en cultivos en suelo. Así, en esas fechas aislamos *F. oxysporum* de plantas con marchitez en verde sectorial, menor crecimiento y algunas de ellas con porciones de las nerviaciones foliares oscuras. Las plantas enfermas procedían de fincas de los términos municipales de Moguer, Cartaya, Lepe, Almonte, Villablanca y San Bartolomé de la Torre. La Fusariosis vascular de la fresa es una enfermedad emergente en la mayoría de las zonas productoras del mundo. Por ello, planteamos la comprobación de la patogenicidad de 6 de los aislados obtenidos. Los aislados fueron clasificados como *F. oxysporum* tanto morfológica como molecularmente. Adicionalmente se incluyó en los ensayos un aislado de origen japonés de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*. Utilizamos el cultivar ‘Splendor’. El diseño experimental fue totalmente al azar con 5 repeticiones. La repetición consistió en una maceta de 0,8 L con una planta joven. La inoculación se realizó mediante baño de raíces en una suspensión de conidias ajustada a 6×10^6 conidias/ml durante 30 minutos. El ensayo en cámara de crecimiento se repitió dos veces. El análisis de los datos conjuntos de ambos ensayos reveló a todos los aislados con virulencia similar y equivalente al aislado de referencia de *F. oxysporum* f. sp. *fragariae*. Las plantas testigos sin inocular no mostraron síntomas de enfermedad. Así, presentamos evidencia de la presencia de la Fusariosis vascular de la fresas en cultivos en suelo en la zona onubense.

EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A LA POBREDUMBRE CARBONOSA DE RAÍZ Y CORONA INDUCIDA POR *Macrophomina phaseolina* DE CULTIVARES DE FRESA EN HUELVA (ESPAÑA)

Avilés M.¹, Refoyo A.², Gata A.¹, Borrero C.¹

¹ Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla, Ctra. Utrera, km 1, 41013, Sevilla, España. aviles@us.es

² Fresas Nuevos Materiales S.A, Plz. Puerto del Moral, 2, portal 1, 6º A, 21007, Huelva, España.

La Podredumbre carbonosa de raíz y corona de fresa asociada a *Macrophomina phaseolina* apareció publicada como enfermedad en cultivos de fresa en Huelva en 2008. Esta enfermedad presenta actualmente una elevada prevalencia e incidencia. Por ello, nos planteamos evaluar la susceptibilidad a esta enfermedad de algunos de los cultivares de fresa más utilizados. En este trabajo, con inoculación artificial y en cámara con temperatura media de 30°C, hemos incluido 9 cultivares: ‘Antilla’, ‘Cisco’, ‘Costa’, ‘Fortuna’, ‘Niebla’, ‘Primoris’, ‘Rábida’, ‘Sabrina’ y ‘Splendor’. La inoculación consistió en riego al sustrato de una suspensión de propágulos del hongo. El diseño experimental fue totalmente al azar con tres repeticiones. Cada repetición consistió en 6 plantas jóvenes cultivadas en un contenedor. El ensayo se repitió dos veces durante los periodos de septiembre a diciembre en 2014 y 2015. El análisis de los datos conjuntos de los ensayos mostró no efecto del cultivar y una incidencia media total del 83%. En definitiva, todos los cultivares comerciales ensayados presentaron una elevada susceptibilidad a la enfermedad.

EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD FRENTE A LA POBREDUMBRE DE RAÍZ Y CORONA INDUCIDA POR *Phytophthora cactorum* DE CULTIVARES Y SELECCIONES AVANZADAS DE FRESA EN HUELVA (ESPAÑA)

Avilés M.¹, Refoyo A.², Gata A.¹, Borrero C.¹

¹ Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla, Ctra. Utrera, km 1, 41013, Sevilla, España. aviles@us.es

² Fresas Nuevos Materiales S.A, Plz. Puerto del Moral, 2, portal 1, 6º A, 21007, Huelva, España.

La Podredumbre de cuello y raíz de fresa está causada por *Phytophthora cactorum*. En trabajos previos hemos observado las diferentes susceptibilidades a esta enfermedad de los cultivares más frecuentes en la zona onubense. En este trabajo, con inoculación artificial y en cámara con condiciones controladas, hemos incluido 2 cultivares y 3 selecciones avanzadas de fresa. La inoculación consistió en baño de raíces en una suspensión de propágulos del hongo. El diseño experimental fue totalmente al azar con tres repeticiones. Cada repetición consistió en 6 plantas jóvenes cultivadas en un contenedor. El ensayo se repitió dos veces durante los periodos de septiembre a diciembre en 2014 y 2015. El análisis de los datos conjuntos de ambos ensayos mostraron cuatro grupos de susceptibilidad: ‘Fortuna’ el cultivar más susceptible; ‘Primoris’ con susceptibilidad moderada; A11-407P-3 y A10-48-3 con baja susceptibilidad y A10-207P-8 la selección avanzada menos susceptible. Así, esta última mostró menos del 56% de la severidad registrada en el cultivar más susceptible. Además, de constatar la obtención en este programa de mejora de selecciones avanzadas de fresa con baja susceptibilidad a la enfermedad, también presentamos evidencia en condiciones controladas de la elevada susceptibilidad del cultivar ‘Fortuna’ a la afección por *P. cactorum*.

PROPIEDADES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DEL COMPOST DE ALPERUJO RELACIONADAS CON SU SUPRESIVIDAD A LA VERTICILOSIS

Borrero C., Gata A., Avilés M.

Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla, España. cborrero@us.es.

En la bibliografía se encuentran citas asociadas a la supresividad de ciertos compost de alperujo a las verticilosis. Así, nos propusimos en este trabajo elucidar qué propiedades de estos composts están relacionadas a la supresividad a la verticilosis. Para ello se escogieron 4 composts de almazaras andaluzas cada uno con dos tiempos de maduración. Estos composts se formularon con turba (1:2 v/v, compost de alperujo/turba) para su uso como sustrato. Se evaluó su supresividad en cámara de cultivo frente a la verticilosis del algodón en cuatro bioensayos (dos por cada tiempo de maduración) cada uno con 3 bloques y 5 repeticiones (contenedores con una planta de algodón). La supresividad se evaluó frente a un sustrato de turba. Para conocer las propiedades químico-biológicas de estos sustratos formulados con compost se midió antes de los bioensayos pH, conductividad eléctrica, actividad β -glucosidasa, biomasa microbiana y actividades enzimáticas con las tiras API-ZYM. El inóculo empleado fue 5×10^6 conidias/cc sustrato de un aislado del patotipo defoliante. La severidad se evaluó semanalmente desde inicio de síntomas. Sólo uno de los cuatro compost de alperujo presentó supresividad independientemente del tiempo de maduración. Respecto a las características estudiadas se encontró una regresión lineal múltiple entre la severidad registrada en los sustratos con alperujo y su pH, conductividad eléctrica, actividad β -glucosidasa y diversidad enzimática medida con el índice de Shannon. Así, se pone de manifiesto que dentro de los rangos de estas variables en los composts estudiados se favorece la supresividad a la verticilosis a mayor pH, actividad β -glucosidasa y diversidad enzimática y menor conductividad eléctrica. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2010-21982 del Ministerio de Ciencia e Innovación, cofinanciado por fondos FEDER de la UE.

CAMBIOS EN LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE UN SUSTRATO FORMULADO CON COMPOST DE ALPERUJO QUE CONLLEVAN LA REDUCCIÓN DE SU SUPRESIVIDAD A LA VERTICILOSIS

Borrero C., Gata A., Avilés M.

Dpto. Ciencias Agroforestales, E.T.S.I.A. Universidad de Sevilla. Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla, España. cborrero@us.es.

A partir de un sustrato formulado con compost de alperujo supresivo a la verticilosis del algodón se decidió elucidar la naturaleza de su supresividad y los tipos de microorganismos implicados. Para ello se llevaron a cabo tres bioensayos en condiciones controladas donde se evaluó la supresividad a la verticilosis de algodón de dicho compost con diferentes tratamientos: fertilizado (con 0.52 g/L de nitrato amónico); autoclavado (dos días consecutivos durante 1 hora a 120 °C); calentado (durante 6 días a 60°C). La supresividad se evaluó frente a un sustrato de turba. El diseño experimental fue totalmente al azar con 5 repeticiones, cada repetición consistió en una maceta con una planta de algodeonero.. El inóculo empleado fue $5 \cdot 10^6$ conidias/cc sustrato de un aislado del patotipo defoliante de *Verticillium dahliae*. La severidad se evaluó semanalmente desde inicio de síntomas. Al final de los ensayos se midió la densidad poblacional de diferentes grupos de microorganismos en la rizosfera de plantas de los diferentes sustratos con alperujo. Los tratamientos térmicos perdieron supresividad respecto al sustrato no tratado, especialmente el calentado a 60 °C, pero siguieron siendo supresivos respecto a la turba. El aporte extra de nitrógeno no afectó apreciablemente a la supresividad. Se encontraron tres regresiones simples que indican que la severidad está favorecida por mayores poblaciones de bacterias copiotrofas, *Bacillus* spp. y el ratio actinomicetes celulolíticos/bacterias celulolíticas. Las bacterias copiotrofas normalmente están asociadas a estrategias de la r (colonizadores). Es lógico que aparezcan en más cantidad en los sustratos calentados debido el vacío biológico que provocan. El tratamiento a 60 °C ha podido seleccionar *Bacillus* spp. (termófilos). Parece por tanto, que el aumento de *Bacillus*, la entrada copiotrofos y un mayor ratio actinomicetes celulolíticos/bacterias celulolíticas no mantienen la supresividad original del sustrato no tratado.

FTF2 ES UN FACTOR DE VIRULENCIA EN Fusarium oxysporum

Casado-del Castillo, V., Niño-Sánchez, J., Hernández-Aparicio, F. J., Báez-Ojeda, L., Díaz-Mínguez, J.M.¹

¹ Instituto Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), Dpto. de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca. C/ Río Duero 12, Villamayor, 37185 Salamanca, Spain. virginiacasado@usal.es

La familia génica *FTF* consta de dos genes que codifican factores de transcripción tipo dedo de zinc binuclear, implicados en la virulencia y/o patogenicidad de *F. oxysporum*. *FTF2* se encuentra como copia única en el genoma central y presenta una homología del 83% con *FTF1* en su región codificante. El número de copias o parálogos de *FTF1* depende de la forma especial y la virulencia de los aislados considerados, y se ubican en distintos cromosomas del genoma adaptativo. Los estudios realizados hasta la fecha indicaban un papel relevante en virulencia para los parálogos de *FTF1*; sin embargo, el papel de *FTF2* no había sido dilucidado, por lo que decidimos caracterizar funcionalmente mutantes nulos delecionados en este gen en una estirpe muy virulenta de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Los mutantes *FTF2* presentan un crecimiento saprofito idéntico al del tipo silvestre en medios con distintas fuentes de carbono y/o nitrógeno; sin embargo, difieren del tipo silvestre en el incremento de la producción de macroconidios. En la interacción con plantas de judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) la sintomatología inducida es de menor gravedad que aquella provocada con el tipo silvestre, y en ningún caso se produce la muerte de la planta. Los análisis de biomasa fúngica acumulada en la raíz y de extensión de la colonización también muestran una reducción respecto del tipo silvestre, lo cual resulta coherente con el incremento observado en la respuesta defensiva de la planta mediada por ácido salicílico. Los estudios de transcriptómica comparada (RNAseq) indican que los mutantes *FTF2* muestran una drástica represión de la expresión de un gen cuya proteína codificada está implicada en metilación, y de algunos genes codificadores de dioxigenasas e hidrofobinas, cuyo papel en patogenicidad se ha demostrado en otros hongos fitopatógenos.

EVALUACIÓN IN VITRO E IN VIVO DE ACEITES ESENCIALES (CANELA Y CLAVO) PARA CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS OPORTUNISTAS

David Sánchez del Valle¹, Pedro Mediavilla Estébanez¹, Fernando M. Alves Santos²

¹ Instituto de Enseñanza Secundaria Trinidad Arroyo, c/ Filipinos s/n 34004, Palencia, España.

² Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. ETS Ingenierías Agrarias de Palencia, Universidad de Valladolid. Avenida de Madrid 57, 34071 Palencia, España. finalvess@pvs.uva.es

Los hongos oportunistas afectan numerosas especies vegetales tanto en condiciones de campo como en productos recolectados. Estas enfermedades son difíciles de combatir mediante la aplicación de fitosanitarios que se encuentra muy limitada y su uso es especialmente delicado en productos destinados a consumo. El Real Decreto 1311/2012, de 14 de Septiembre, que establece el uso sostenible de los productos fitosanitarios indica que “Los métodos sostenibles biológicos, físicos y otros no químicos deberán preferirse a los métodos químicos”. El presente trabajo evalúa la capacidad de control biológico de aceites esenciales vegetales frente a hongos patógenos. El uso de estos productos está bien documentado y hemos seleccionado algunas combinaciones de patógeno fúngico-extracto vegetal que no hubiesen sido previamente ensayadas. Para ello hemos seleccionado los aceites esenciales de canela y clavo para enfrentarlos a los hongos necrótrofos *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium* y *Penicillium*.

Tanto para los ensayos *in vitro* (medio PDA) como *in vivo* sobre naranjas se aplicaron tres dosis del aceite 30, 300 y 3000 partes por millón (ppm). Estas dosis se diluían en el medio artificial donde se sembraba posteriormente el hongo o se aplicaban junto a las esporas del patógeno sobre las naranjas.

Los resultados de los ensayos *in vitro* mostraron que los aceites esenciales de canela y clavo reducen estadísticamente el crecimiento en superficie de los cuatro hongos a 3000 ppm y 300 ppm. En el caso de la canela los resultados son de reducción muy eficiente a 3000 ppm y variable para 300 ppm y 30 ppm. En el caso del clavo el tratamiento de menor dosis no se diferenciaba del control. Los resultados sobre naranjas no indican influencia del tratamiento (quizás debido a un efecto volátil de los aceites). La única diferencia estadística es el desarrollo más rápido de la pudrición en la bandeja de *Botrytis*.

INDUCED RESISTANCE AGAINST *Phytophthora capsici* IN PEPPER BY VANILLYL NONANOATE, A FO47 ELICITOR AND A BACILLUS PRODUCTGarcía, T.¹, Lois, M.¹, Veloso, J.¹, Díaz, J.¹

¹ Grupo de Investigación de Fisiología e Aplicacións das Plantas (FISAPLANT), Departamento de Biología Animal, Biología Vexetal e Ecoloxía, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña, Campus de A Coruña, 15071 A Coruña, Spain. josefv@udc.es

Phytophthora capsici Leon. is an important pathogen of pepper (*Capsicum annuum* L.) causing Phytophthora root rot. In this study, several inducers of resistance were tested in pepper in order to control this disease. The inducers were a) vanillyl nonanoate (VNT), a non-pungent analogue to capsaicin (secondary metabolite present in hot pepper fruits), b) a crude extract of the biocontrol fungus Fo47, and c) Verticibel, a bioestimulant product consisting in *Bacillus* sp. All the treatments reduced the symptoms of the disease, namely 22.4% by application of VNT, 23.7% by the Fo47 crude elicitor and 20.7% by Verticibel. VNT induced both peroxidase activity and lignin deposition in cell walls. Moreover, VNT increased the expression of *CaACO1* (a gene involved in ethylene biosynthesis) and the ethylene inhibitor MCP abolished the VNT-induced resistance. *CaAOS* expression was repressed by VNT (*CaAOS* is involved in jasmonate biosynthesis), and the jasmonate biosynthesis inhibitor ibuprofen caused an induction of resistance similar but not additive to VNT. VNT caused an increase in the burst of H₂O₂ after *P. capsici* inoculation, whereas DTT (a H₂O₂ scavenger) abolished the VNT-induced resistance. The results suggest that VNT induces systemic resistance against Phytophthora root rot by means of lignification and peroxidases, through pathways regulated by JA, ethylene and H₂O₂. In the case of the Fo47 crude elicitor, it also induced resistance against *P. capsici* in bean, related to β -1,3-glucanase and peroxidase activities. An analysis of pepper plants showed that *CaSCI* (a gene responsible of capsidiol production) was also induced by Fo47 crude elicitor, partially explaining the reduction of symptoms.

Research supported by Xunta de Galicia (Grant 10MRU103009PR)

SELECCIÓN DE POSIBLES AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DEL FUEGO BACTERIANO ENTRE LA MICROBIOTA DEL NÍSPERO

Azevedo, T.^{1,2}, Català-Senent, J.F.¹, Merchán, R.¹, Moura, L.², López, M.M.¹, Marco-Noales, E.¹

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, CV-315, Km 10.7, 46113 Moncada (Valencia), España. emarco@ivia.es

² Escola Superior Agrária de Ponte de Lima (ESA - IPVC), Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal.

Erwinia amylovora es el agente causal del fuego bacteriano, una enfermedad que provoca importantes pérdidas económicas en rosáceas como peral, manzano, níspero y varias especies ornamentales. En la provincia de Alicante hay una zona que constituye la Denominación de Origen Protegida “Nísperos de Callosa d’En Sarrià”, que comprende 19 municipios, cuya principal actividad económica es la producción de níspero. Aunque en localidades cercanas ha habido brotes de fuego bacteriano, no se ha detectado la enfermedad en los nísperos de la DOP, por lo que la labor de prevención es fundamental para mantener libre de fuego bacteriano esta importante zona productora de níspero. Dentro de las actividades preventivas, una de las líneas de actuación es la búsqueda y selección de posibles agentes de control biológico para este cultivo. En una primera aproximación, se llevó a cabo el aislamiento de microbiota bacteriana de hojas y flores de níspero, en varios medios de cultivo, y se seleccionaron todos los morfotipos coloniales representativos de la biodiversidad cultivable. Los 173 aislados representativos se ensayaron en nísperos inmaduros para evaluar su capacidad de inhibir o frenar la infección causada por *E. amylovora*. Se seleccionaron los que retardaron la aparición de síntomas y, además, no produjeron reacción de hipersensibilidad en tabaco. Se ensayó la actividad antagonista frente a *E. amylovora* de cuatro aislados seleccionados, y su capacidad de inhibir la infección en flores de peral. Se ha iniciado una caracterización fenotípica de estos aislados que se han identificado, mediante secuenciación completa del ADN ribosómico 16S, como *Enterobacter cancerogenus*, *Curtobacterium* sp., *Pseudomonas rhizospherere* y *Rosenbergiella epipactidis*.

DISSECTING THE MULTIFUNCTIONAL ROLE OF THE N-TERMINAL DOMAIN OF THE *MELON NECROTIC SPOT VIRUS* COAT PROTEIN IN RNA PACKAGING, VIRAL MOVEMENT AND INTERFERENCE WITH ANTIVIRAL PLANT DEFENCE.

Marta Serra-Soriano, José Antonio Navarro, and Vicente Pallás

Laboratory of Plant Molecular Virology, Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas, IBMCP (Universitat Politècnica de València-Consejo Superior de Investigaciones Científicas), Ingeniero Fausto Elio s/n, 46022, Valencia, Spain.

The coat protein (CP) of Melon necrotic spot virus (MNSV) is structurally composed of three major domains. The middle S-domain builds a robust protein shell around the viral genome, while the C-terminal protruding domain or P-domain is involved in the attachment of virions to the transmission vector. Here, we showed that the N-terminal domain or R-domain and the arm region, which connects the R-domain and the S-domain, were involved in different key steps of the viral cycle such as cell to cell movement, suppression of RNA silencing and pathogenesis through their RNA binding capabilities, a feature that appeared to be crucial for CP multifunctionality. Deletion mutants revealed that the CP RNA binding ability was abolished only after complete, but not partial, deletion of the R-domain and the arm region. However, the comparison of the apparent dissociation constants for the CP-RNA binding reaction of several partial deletion mutants showed that the arm region played a more relevant role than the R-domain in *in vitro* RNA binding. Similar results were obtained in *in vivo* assays, although, in this case, full-length CPs were required to encapsidate full-length genomes. We also found that the R-domain carboxyl portion and the arm region were essential for efficient cell-to-cell movement, for enhancing Potato virus X pathogenicity, for suppressing systemic RNA silencing and for binding small RNAs. Therefore, unlike other carmovirus CPs, the R-domain and the arm region of MNSV CP have acquired, in addition to other essential functions such as genome binding and encapsidation functions, the ability to suppress RNA silencing by preventing systemic small RNA transport.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA MANCHA OCRE DEL ALMENDRO (*Polystigma amygdalinum*) EN ANDALUCÍA Y CATALUÑA

Zúñiga, E.¹, Luque, J.¹, Miarnau, X.², Lovera, M.³, Arquero, O.³, Ollero, A.⁴, Roca, L.F.⁴, Traperó, A.⁴

¹ Departamento de Patología Vegetal, IRTA, Carretera de Cabrils km 2, 08348 Cabrils. erick.zuniga@irta.cat

² Estación Experimental de Lleida, IRTA, Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida (PCiTAL), Parc de Gardeny, Edifici Fruitcentre, 25003 Lleida.

³ IFAPA “Alameda del Obispo”, Avenida Menéndez Pidal s/n, 14080 Córdoba.

⁴ Departamento de Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio C-4, 14071 Córdoba.

La mancha ocre del almendro, causada por el hongo patógeno biótrofo *Polystigma amygdalinum* P.F. Cannon, es una enfermedad común en zonas de clima continental de España. Provoca una defoliación prematura del árbol, en mayor o menor grado según la susceptibilidad de las variedades, lo que se asocia a un descenso en la producción de fruto. Actualmente no se llevan a cabo medidas profilácticas dado el desconocimiento práctico de la biología del patógeno. En este trabajo se presentan los resultados de diversos ensayos realizados de forma coordinada en Andalucía y Cataluña para estudiar la producción del inóculo del patógeno y el período de infectividad del mismo; se cuenta con datos de tres años de seguimiento (2014-2016) en determinados casos. El seguimiento periódico de la maduración de ascocarpos y ascosporas en Cataluña mostró un óptimo de maduración de los propágulos en primavera (Abril-Mayo), coincidiendo con registros también altos de ascosporas en muestras de hojas obtenidas del campo. En Andalucía, la presencia potencial del inóculo en forma de ascosporas procedentes de hojas infectadas abarcó de Febrero a Mayo siendo más amplia que en Cataluña. No obstante, el periodo de máxima producción de ascosporas fue más restringido y varió notablemente entre años. Se observaron también diferencias en el calendario de producción del inóculo en dos localidades distintas de Cataluña, siendo más temprano en les Borges Blanques (Febrero-Marzo) que en Gadesa (Abril), aunque más extenso en este último caso. La exposición de plantas ‘trampa’ de almendro bajo condiciones naturales de infección en campo mostró que el período de infectividad en Cataluña se extiende de Abril a finales de Junio, mientras que en Andalucía abarcó desde Marzo hasta Mayo. Esta aproximación al conocimiento de la biología de *P. amygdalinum* constituye un primer paso en la elaboración de medidas de control de esta enfermedad en nuestro país.

IMPLICACIÓN DE LA MATRIZ EXTRACELULAR DE BIOFILMS DE *Bacillus subtilis* EN LA INTERACCIÓN BENEFICIOSA CON LA PLANTA.

Cámara-Almirón, J.¹, Antequera-Gómez, M.¹, Pedrero-Vega, E.¹, Pérez-García, A.², de Vicente, A.², Romero, D.¹

¹IHSM-UMA-CSIC. Departamento de Microbiología, Centro de Supercomputación y Bioinnovación, Universidad de Málaga, Calle Severo Ochoa 34 (Parque Tecnológico de Andalucía), 29590 Málaga, España. epedrero@uma.es

²IHSM-UMA-CSIC. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos, 29071, Málaga, España

Los biofilms bacterianos están constituidos por comunidades de células unidas entre sí por una matriz extracelular polimérica. Los componentes de la matriz extracelular pueden variar dependiendo de la cepa bacteriana, pero en general se puede decir que está constituida por proteínas, exopolisacáridos y/o ácidos nucleicos. La matriz extracelular es un tejido multifuncional que contribuye a: la arquitectura final del biofilm, la regulación del flujo de nutrientes y gases dentro del biofilm, la interacción con las superficies, y la protección de las células frente a agentes tóxicos externos. Aunque son numerosos los estudios que se han centrado en el papel de la matriz en la virulencia de bacterias patógenas de humanos, este tejido polimérico puede ser igualmente importante en la interacción beneficiosa de un agente de biocontrol con la planta.

Tanto para el desarrollo de la actividad de biocontrol como para la promoción del crecimiento radicular es necesaria la colonización y persistencia del microorganismo sobre la superficie de la planta, y la pregunta es hasta qué punto es importante la formación de biofilms. En este estudio trabajamos con cepas de *Bacillus* como agentes de control biológico (BCA) frente a enfermedades de cucurbitáceas y a su vez promotoras del crecimiento radicular (PGPR por sus siglas en inglés *plant growth promoting rhizobacteria*). Valiéndonos de una batería de mutantes en distintos elementos estructurales y funcionales de la matriz extracelular, estudiamos los patrones de colonización y persistencia de estas cepas en filosfera y rizosfera y evaluamos su efecto sobre la actividad PGPR. Las diferencias observadas entre algunos mutantes de matriz en cuanto a la dinámica de población y la distribución espacial en los dos nichos de estudio, así como en su actividad PGPR, apuntan a su relevancia en la ecología y funcionalidad de estos agentes de biocontrol.

Este trabajo ha sido financiado por un programa European Research Council-Starting Grant-2014 (8.06 UE/60.8003) así como de un contrato con la empresa holandesa Koppert B. V., Research and development agreement (8.06/60.4086).

EVALUACIÓN DE VARIAS DOSIS DE COBRE Y DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS FRENTE A LA INFECCIÓN POR *Pseudomonas savastanoi* EN OLIVO

Roca, L.F., Miranda de Fuentes, P., Romero, J., Raya, M.C., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio C-4, 14071, Córdoba. E-mail: ag3rocal@uco.es

La Tuberculosis del olivo, causada por la bacteria *Pseudomonas savastanoi*, es una enfermedad conocida desde antiguo en el cultivo, siendo los tumores o verrugas el síntoma característico de la misma. Actualmente se considera una enfermedad re-emergente, consecuencia de los nuevos sistemas de cultivo altamente mecanizados junto con el uso de cultivares de mayor susceptibilidad. Los productos cúpricos son los únicos autorizados para su control, si bien, éstos no resultan suficientemente eficaces en todos los casos y condiciones, especialmente por su carácter preventivo. El objetivo del presente trabajo fue poner de manifiesto la importancia del uso de una dosis adecuada para el tratamiento de las heridas, vía de entrada de la bacteria para causar la infección, así como la evaluación de algunos productos alternativos al cobre. Para ello se realizaron dos experimentos, en los que se usaron plantones del cultivar Arbequina de un año de edad, inoculados mediante la realización de heridas en el tallo principal y posterior pulverización con una suspensión bacteriana. En el primer experimento se evaluaron sulfato de cobre puro y dos oxiclорuros de cobre, uno de ellos además acidificado con CIH. Las dosis establecidas fueron 2000, 1000, 500 y 50 mg Cu/l. En el segundo experimento se evaluaron, como productos alternativos al cobre, clortalonil, dos antitranspirantes, Vapor Gard y Nu-Film y un fertilizante a base de azufre, cobre y boro. La enfermedad se evaluó atendiendo a la incidencia y severidad de la infección, definidas como porcentaje de heridas con tumores desarrollados y porcentaje de cada herida ocupada por el tumor. Se observó una notable influencia de la dosis de cobre en la protección de las heridas, así como la influencia positiva de la acidificación del cobre en la eficacia. Los productos alternativos no resultaron eficaces frente a la infección por *Pseudomonas savastanoi*.

CARACTERIZACIÓN DE LA ORF 2b DEL VIRUS DEL MOTEADO DE LA PARETARIA (PMoV)

Door Peeters, A.¹, Martínez-Pérez, M.¹, López, C.², Pallás, V.¹, Aparicio, F.¹

¹Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP, UPV-CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, Spain.

² Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV-UPV), Universitat Politècnica de València, Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, Spain.

El virus del moteado de la paretaria (PMoV) pertenece al género *Iilarvirus* (familia *Bromoviridae*). Este virus infecta tomate y pimiento en los que induce síntomas de moteado y necrosis en hojas así como lesiones necróticas en fruto que hace que las plantas infectadas no sean productivas. El PMoV se transmite a través de semillas y polen infectado con la intervención de diferentes especies de insectos. Al igual que el resto de los miembros de la familia *Bromoviridae*, el PMoV presenta un genoma tripartito de RNA de simple cadena y polaridad positiva. Sin embargo, a diferencia de los bromovirus, el RNA 2 de algunos ilarvirus y cucumovirus, además de la ORF correspondiente a la replicasa presenta una ORF extra expresada través de un RNA subgenómico (sgRNA 4A) y que codifica una proteína denominada 2b. Para el virus del mosaico del pepino (CMV) se ha demostrado que 2bORF interviene en el movimiento sistémico del virus y actúa como supresor del silenciamiento génico post-transcripcional. Además, en plantas de tabaco infectadas con el ilarvirus latente de la espinaca (SpLV) se ha descrito la presencia de un sgRNA 4A y también se ha demostrado que la proteína 2b del virus 2 del espárrago (AV2) puede actuar como supresor de silenciamiento génico a nivel sistémico. En este trabajo se presentan evidencias de la existencia de un sgRNA 4A derivado del RNA 2 en plantas de *Chenopodium quinoa* infectadas con PMoV. Asimismo, mediante microscopía confocal se ha analizado la localización subcelular de la hipotética proteína 2b y mediante expresión transitoria se ha encontrado que no presenta actividad como supresor del silenciamiento génico a nivel local. Experimentos están en progreso para analizar su posible efecto sobre el silenciamiento a nivel sistémico.

DECAIMIENTO Y MUERTE DE OLIVOS POR *Rosellinia necatrix* EN EL ALENTEJO PORTUGUÉS

Roca, L.F., Romero, J., Raya, M.C., Trapero, A.

Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio C-4, 14071, Córdoba. E-mail: ag3rocal@uco.es

En los últimos años se ha observado en el Alentejo portugués rodales de olivos afectados de decaimiento y muerte, especialmente en cultivo superintensivo. Los síntomas en la parte aérea consisten inicialmente en retraso en el crecimiento, amarillez, defoliación y seca de ramas, mientras el cuello y las raíces gruesas aparecen necrosadas en mayor o menor medida. Los aislamientos de los tejidos necrosados en PDA (patata-dextrosa-agar) y MA (malta-agar) y los ensayos de patogenicidad permitieron identificar a *Rosellinia necatrix* como agente causante de los síntomas observados. Este ascomiceto afecta a un gran número de especies vegetales, tanto herbáceas como leñosas, especialmente en zonas de clima mediterráneo u oceánico. En especies leñosas causa una podredumbre radical, afectando principalmente a los tejidos vivos, parénquima, cambium y floema, lo que origina el debilitamiento progresivo de los árboles afectados. El objetivo del presente trabajo fue evaluar, en condiciones controladas, distintos tratamientos de suelo para el control de este patógeno. Para ello, se infestó suelo de forma artificial mediante la adición de granos de trigo colonizados por el patógeno. El suelo se dispuso en macetas de 800 cm³ de capacidad. Se evaluaron cuatro tratamientos, un fungicida, fluazinam, dos tratamientos biológicos, compost de alperujo y compost de orujo de vid, y un tratamiento de calor húmedo, tratando de simular el proceso de solarización. Para este último, las macetas conteniendo el suelo inoculado y humedecido se introdujeron en una bolsa de plástico y ésta en un horno, que se mantuvo a 40°C durante 3 días y 4 días más a 30°C. Una vez aplicados los tratamientos se colocaron estaquillas de morera (*Morus* sp.) en las macetas a modo de cebos y el suelo se mantuvo húmedo durante toda la duración del experimento. Los tratamientos con fluazinam y la simulación de solarización fueron los más efectivos contra *Rosellinia*.

HORIZONTAL AND VERTICAL TRANSMISSION OF THE HYPOVIRULENCE-ASSOCIATED MYCOVIRUS *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* virus 1.

Lemus-Minor, C.G.¹, Cañizares, M.C.², García-Pedrajas, M.D.², Pérez-Artés, E.¹

¹ Depto. Protección de cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IAS-CSIC), Alameda del Obispo s/n, 14004 Córdoba, España (cglemus@ias.csic.es, eperezartes@ias.csic.es)

² Depto. Protección de plantas, Instituto de Hortifruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), 297550 Algarrobo-Costa, Málaga, España (carmen.canizares@eelm.csic.es, mariola@eelm.csic.es)

Fusarium oxysporum f. sp. *dianthi* (*Fod*) is the causal agent of carnation wilt, the most devastating disease of this plant species. Recently, a “chryso-like” mycovirus, named *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* virus 1 (*FodV1*), has been identified in isolate *Fod* 116 of *Fod*. *FodV1* genome has been fully sequenced, and it consists of 4 dsRNA segments ranging from 2.6 to 3.5 kb. Comparison of the naturally infected *Fod* 116 isolate (*Fod* 116V⁺) and a selected version with a very reduced level of viral dsRNA (*Fod* 116V⁻), evidenced that *FodV1* significantly reduced the mycelial growth and conidiation rates, and the virulence on carnation of his fungal host, thus opening the possibility to its use as a biological control agent. In this work we have demonstrated that *FodV1* can be transferred horizontally, through hyphal anastomosis between vegetatively compatible isolates, and vertically during conidiation, and that the new recipient isolate reproduces the same phenotypic alterations that the donor one. To assess the horizontal transmission, isolate *Fod* 77, compatible with the donor *Fod*116V⁺, was transformed with the *hph* gen (hygromycin resistant), and after hyphal anastomosis between both isolates, the presence of *FodV1* in the new fungal host was evidenced by dsRNA purification and RT-qPCR. Comparative analysis of isolate *Fod* 77 with (V⁺) and without (V⁻) mycovirus *FodV1*, showed significant alterations in all the hypovirulence-associated traits analyzed. The frequency of mycovirus transmission through asexual spores has also been determined, showing significant differences between the two virus-containing isolates.

* Research supported by Grants AGL 2010-18279 and AGL 2013-48980-R, from the Spanish Ministry of Science and Innovation, co-funded by the European Union (FEDER funds)

SIMULTANEOUS DETECTION OF *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pepino mosaic virus* AND *Mexican papita viroid* BY NON-RADIOACTIVE MOLECULAR HYBRIDIZATION USING A UNIQUE POLYPROBE

Zamora-Macorra E.J.¹, Ochoa-Martínez D.L.¹, Valdovinos-Ponce G.¹, Rojas-Martínez R.¹, Ramírez-Rojas S.³, Sánchez-Navarro, J.A.², Pallás, V.², Aparicio, F.²

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km.36.5, CP 56220. Texcoco, Estado de México, México.

²Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP, UPV-CSIC), Universidad Politécnica de Valencia, Avenida de los Naranjos s/n, 46022 Valencia, Spain.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias- Zacatepec. Morelos. México

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is by far the most important vegetable crop representing 72% of the value of fresh vegetables produced worldwide. Tomato crops are susceptible to a wide range of pathogens including fungi, bacteria, viruses and viroids. Economically relevant pathogens infecting tomato include *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pepino mosaic virus* (PepMV) and *Mexican papita viroid* (MPVd). *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* is a gram-positive actinomycete that causes bacterial canker of tomato and represents a serious problem in global main production areas of this crop. This bacterium has been included by the European Plant Protection Organization (EPPO) in the list of quarantine organisms for all member states. PepMV is a member of genus Potexvirus which disease severity depends on the environmental conditions. Severely affected plants become stunted and distorted with significant reduction of fruit quality. Finally, MPVd has been until now identified in tomato crops in Mexico and Canada. Tomato infected plants show general stunting and reduction on size fruit.

In this work, a polyprobe (poly-3) was developed and evaluated for the simultaneous detection of these pathogens in tomato plants by non-isotopic molecular hybridization. The endpoint detection limit of the poly-3 with *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* cell cultures was 10⁶ CFU/ml. No differences were found in terms of the sensitivity and specificity when the individual riboprobes were compared to the poly-3 for the detection of the three pathogens. The analysis of 80 tomato field samples by the poly-3 and RT-PCR techniques rendered the same number of positive samples for each pathogen. As far as we know this is the first time that three pathogens with very different life cycle styles (bacteria, virus and viroid) are simultaneously detected in a single assay. The possibility of using this poly-3 technology for the routine diagnosis of field tomato samples is discussed.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Dactylonectria* e *Ilyonectria* EN PLANTAS DE VID CON SÍNTOMAS DE DECAIMIENTO

Tolosa, V.M.¹; Lerma, M.L.¹; Castillo, P.¹; Armengol, J.²; Muñoz, R.M.¹

¹ Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF), Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP). Avda. Gregorio Arcos s/n. 02006 Albacete, España. victorm.tolosa@uclm.es

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

El pie negro es una de las enfermedades de la madera de la vid que presenta mayor gravedad en la actualidad. Esta patología, causada por hongos del suelo (anamorfos tipo *Cylindrocarpon*) es una de las alteraciones más frecuentes en planta joven en España y, especialmente, en Castilla La Mancha. Desde el año 2002, las consultas relativas a plantas jóvenes de vid con síntomas de decaimiento han sido habituales en el Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP), siendo los hongos asociados a la enfermedad del pie negro los detectados con mayor frecuencia, aunque su taxonomía ha sufrido numerosos cambios en los últimos años. Para aclarar la identidad de las especies presentes en Castilla La Mancha, en este trabajo se ha realizado un estudio de identificación molecular de 26 aislados obtenidos de plantas de vid afectadas de decaimiento, procedentes de 7 parcelas y recibidas en el SEDAf entre los años 2014 y 2015. Para ello, se obtuvieron cultivos monospóricos, se realizó la extracción de ADN, la amplificación de éste por PCR, utilizando una pareja de cebadores correspondientes al gen de la histona H3, la secuenciación de los productos de PCR y su posterior análisis filogenético. La especie detectada con mayor frecuencia fue *Dactylonectria torresensis* (42,31% de los aislados estudiados), localizada en 3 parcelas, seguida por *Ilyonectria liriodendri* (23,08%) y *D. novozelandica* (19,23%), ambas en dos de las parcelas muestreadas; por último las especies *D. alcacerensis* y *D. macrodidyma* fueron las que se encontraron con menor frecuencia (7,69%) y fueron detectadas, cada una de ellas, en una única parcela. En aquellas parcelas donde se ha estudiado un mayor número de aislados se ha identificado una mayor variedad de especies.

DETECCIÓN DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* y *F. solani*, DOS IMPORTANTES PATÓGENOS EMERGENTES DE FRESA EN ESPAÑA, MEDIANTE MULTIPLEX PCR

De Cal, A., Castillo, R., Herranz, Y., Melgarejo, P., Larena, I.

Departamento de Protección Vegetal, SGIT-INIA, Carretera de La Coruña 7, 28040, Madrid. ilarena@inia.es

España es uno de los principales productores mundiales de fresas (más de 350.000 tm) y de plantas de vivero (más de 700 millones). Las fresas se ven principalmente afectadas por enfermedades causadas por hongos, oomicetos, y bacterias, que pueden ser responsables de importantes pérdidas económicas. Patógenos emergentes como *Fusarium oxysporum* f sp *fragariae* (FOF) y *F. solani* (FS) tras la retirada del bromuro de metilo requieren la puesta a punto de métodos de diagnóstico sensibles, específicos y fiables. El objetivo principal de este trabajo es desarrollar un protocolo molecular rápido y fiable que nos permita diferenciar e identificar en un solo paso FOF y FS. Inicialmente, se desarrolló un protocolo de PCR para FS con 6 aislados identificados mediante secuenciación del gen TEF-1 α , y protocolo y cebadores descritos por Arif et al. (2012). Las condiciones fueron ajustadas en nuestro laboratorio, obteniéndose un fragmento de 658 pb. También se puso a punto una PCR para la detección de FOF utilizando 5 aislados identificados mediante secuenciación de la región ITS1-5.8S-ITS2 rDNA. A partir de esta región se diseñaron nuevos cebadores, seleccionándose una pareja específica (FOFRI-1f/FOFRI-1r), con la que se desarrolló un protocolo de PCR, obteniéndose un fragmento de 171 pb. Finalmente, se ha desarrollado un protocolo que nos permite diferenciar e identificar en un sólo paso ambos patógenos desde mezclas de cultivos puros empleando una multiplex PCR con los cebadores de las PCR individuales para cada patógeno (Tef-Fs4f/Tef-Fs4r y FOFRI-1f/FOFRI-1r) y las siguientes condiciones: 94°C 2 min; 30x de 94°C 30 s, 59°C 1 min, 68°C 1 min; 68°C 2 min. La PCR multiplex nos ha permitido identificar 15 aislados de FS y 86 de FOF desde 168 aislados obtenidos desde plantas de fresa y suelos infectados de viveros de altura e identificados morfológicamente como *Fusarium spp.* La identidad de estos aislados se confirmó mediante las PCRs individuales. En estos momentos se está validando esta multiplex PCR con muestras de suelo y material vegetal inoculado artificialmente. Se discutirán los resultados así como identificación molecular frente a identificación morfológica.

Arif et al 2012, African J. of Biotech. 11: 444-447

*Este trabajo ha sido financiado por el proyecto 266505 FP7-ERANET EUPHRESCO II. European phytosanitary Research coordination" (Coordinación Europea de Investigación Fitosanitaria) y el proyecto ERTA2013-00062-C05-01.

LA DESINFECCIÓN ANAERÓBICA DE SUELOS (ASD) EN PRIMAVERA EN EXTREMADURA REDUCE LA SUPERVIVENCIA E INFECTIVIDAD DE *Phytophthora nicotianae* EN PIMIENTO

Serrano-Pérez, P.¹, Roskopf, E.², Santiago, A.¹, Rodríguez-Molina, MC.¹

¹ CICYTEX, Instituto de Investigaciones Agrarias Finca La Orden-Valdesequera, A-5, km 372, 06187, Guadajira, Badajoz, España. Email: paula.serranop@gobex.es

² USDA, ARS, United States Horticultural Research Laboratory, 2001 S. Rock Rd., Fort Pierce, FL 34945, USA.

La Desinfección Anaeróbica del Suelo (ASD) es una técnica ampliamente utilizada en diversos sistemas agrarios de todo el mundo para el control de hongos fitopatógenos del suelo, obteniendo resultados comparables a la utilización de desinfectantes químicos. Consiste básicamente en tres pasos: 1º) adicionar al suelo materia orgánica fácilmente degradable y con alto contenido en azúcares; 2º) saturar el suelo de agua y 3º) cubrir con plástico durante, al menos, 3 semanas. El objetivo de este trabajo fue la evaluación de la ASD en primavera en Extremadura para el control de *Phytophthora nicotianae*, agente causal de podredumbres de cuello y raíces en cultivos de tomate y pimiento en esta región. En el mes de Abril de 2015 se estableció un ensayo de campo para evaluar el efecto de la ASD sobre clamidosporas de *P. nicotianae* enterradas previamente. Las enmiendas orgánicas estudiadas fueron: orujo de vid (OV), torta de extracción de colza (TC) y salvado de arroz (SA). Las dosis de aplicación fueron las recomendadas para temperaturas del suelo moderadas. Se incluyeron un control sin enmienda (CP) y un control sin enmienda y sin cubrir con plástico (C). El diseño experimental fue de bloques al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos se prolongaron 4 semanas, y, posteriormente, se determinó la supervivencia del inóculo mediante trampas vegetales, y su infectividad, evaluada sobre plantas de pimiento. Tanto la supervivencia como la infectividad se redujeron con los tres tratamientos de ASD, pero con TC y SA se obtuvieron significativamente mejores resultados. Se registró una bajada del pH y del potencial redox en los tratamientos TC y SA, indicando la descomposición de las enmiendas en condiciones anaeróbicas. Realizar la ASD en primavera utilizando subproductos fácilmente descomponibles y con alto contenido en carbono puede ser una alternativa eficaz para los desinfectantes químicos del suelo en Extremadura.

CEPAS DE *Bacillus* spp. MULTIPRODUCTORAS DE METABOLITOS ANTIMICROBIANOS EFECTIVAS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA

Cabrefiga, J., Mora, I., Montesinos, E.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, 17071 Girona. E-mail: emilio.montesinos@udg.edu

Las bacteriosis de cuarentena, en especial las que afectan a los frutales tanto de pepita como de hueso, conocidas desde hace tiempo (*Erwinia amylovora*, *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*) o emergentes (*Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*), siguen sin disponer de métodos de control eficaces. En la actualidad el control de estas bacteriosis en la Unión Europea se limita al uso de compuestos derivados de cobre con lo que existe la necesidad de desarrollar nuevos productos para su control. Nuestro grupo desarrolla estrategias de control biológico mediante bacterias Gram positivas, entre las que contamos con una extensa colección de cepas de *Bacillus*, concretamente de las especies *B. subtilis* y *B. amyloliquefaciens*. El interés de este grupo, además de ser consideradas como bioseguras por la EPA (USA) y EFSA (Europa), es que producen una gran diversidad de metabolitos con actividad antimicrobiana, entre ellos diferentes péptidos antimicrobianos (PAMs) como ciclolipopéptidos (surfactina, iturina, fengicina) o pseudopéptidos. Mediante el estudio de genomas de diferentes cepas de estas especies hemos diseñado cebadores específicos para la detección específica de los péptidos antimicrobianos más remarcables. Estas cepas se han caracterizado utilizando la presencia de genes de biosíntesis de varios ciclolipopéptidos así como la producción de los correspondientes productos mediante HPLC y espectrometría de masas, a la vez que se ha determinado su rango de actividad contra diversas bacterias y hongos fitopatógenos. A partir de esta caracterización, se han seleccionado varias cepas para verificar su eficacia en el control de tres bacteriosis de cuarentena en condiciones controladas de invernadero. Finalmente, la cepa más eficiente ha sido evaluada en condiciones de semi-campo, obteniéndose eficacias de control similares a las de productos químicos de referencia.

Project DROPSA UE.FP7-KBBE.2013.1.2-04 GA no: 613678.

POTENCIACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL PEPTIDO ANTIMICROBIANO BP100 MEDIANTE LISOZIMA EN EL CONTROL DE *Erwinia amylovora*.

Cabrefiga, J., Montesinos, E.

Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, 17071 Girona. E-mail: jordi.cabrefiga@udg.edu

El fuego bacteriano, causado por *Erwinia amylovora*, es una enfermedad de gran interés económico y comercial porque afecta a plantas de la familia de las Rosáceas. Excepto los antibióticos, que no están autorizados en la Unión Europea, no se dispone de métodos de control eficaces. Los péptidos antimicrobianos sintéticos, y más en concreto el undecapéptido BP100, desarrollado conjuntamente por el CIDSAV y el LIPPSO de la Universidad de Girona, ha mostrado gran actividad en el control de diferentes bacterias fitopatógenas, especialmente contra *E. amylovora*. Sin embargo, el uso del BP100 en protección de cultivos está limitado por su elevado coste de síntesis, y por la dosis necesaria para un control efectivo en condiciones de campo. Por este motivo, es necesario diseñar estrategias de aplicación para mejorar la eficacia de BP100 con el fin de reducir la concentración de péptido necesario para una buena eficacia de control. En el presente trabajo se ha evaluado el uso de lisozima como potenciador de la actividad de BP100, ya que esta enzima afecta a la funcionalidad de la pared bacteriana. Los resultados muestran que la combinación de ambos componentes, incrementa la actividad antimicrobiana relacionada con un aumento del daño a nivel de la membrana celular y de la reducción en la actividad metabólica celular. Además, la combinación del BP100 con lisozima redujo alrededor de 4 veces la concentración mínima inhibitoria *in vitro* incluso con presencia de extractos vegetales que presentan cierta actividad inhibitoria del péptido. Finalmente, la combinación del BP100 con lisozima mostró la misma actividad que el BP100 4 veces concentrado en cuanto a reducción de infecciones en hojas de peral. El trabajo demuestra que la combinación del BP100 con lisozima tiene un efecto sinérgico en la actividad de control de infecciones, lo que permite reducir la cantidad de péptido necesaria para obtener buenos niveles de eficacia en el control de bacteriosis.

DESARROLLO DE UN MICROARRAY DE ADN PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS EN PLANTAS HORTÍCOLAS.

Santísima-Trinidad, A.B.¹, de Gea, A.², Sánchez, C.², Pascual, JA.¹, Ros, M.¹

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas – CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo 25, 30100 Murcia, España. ablopez@cebas.csic.es.

² Microgaia Biotech S.L., Campus Universitario de Espinardo, Parque científico, 30100, Murcia, España.

En el área mediterránea y principalmente en la región de Murcia, hay una importante producción de plantas hortícolas. Existen diferentes patógenos que se han asociado a este tipo de plantas, en este caso nos centramos en los patógenos asociados a los cultivos de tomate, pimiento, melón, alcachofa y brócoli. La aparición de enfermedades generadas por patógenos puede suponer una importante pérdida económica en agricultura, por tanto, es necesario un sistema de detección rápida de estos microorganismos con el objetivo de detectar, diagnosticar y controlar los niveles tanto en suelo como en planta de forma específica. En este trabajo, hemos desarrollado un Microarray de ADN que permite la identificación de 48 especies de hongos y 9 de bacterias asociados a estos cultivos. La especificidad de las sondas del Microarray se comprobó mediante la hibridación del ADN correspondiente a los cultivos puros de los diferentes hongos y bacterias incluidos. El límite de detección en suelo se comprobó mediante hibridación de ADN de suelos inoculados con diferentes cantidades de UFC de *Fusarium oxysporum* y *Clavibacter michiganensis*. Además se realizaron hibridaciones de material vegetal y suelo, tanto infectado naturalmente como inoculado. Los resultados obtenidos de las hibridaciones realizadas demuestran que el Microarray diseñado en este estudio, es capaz de detectar e identificar simultáneamente varias especies de hongos y bacterias presentes tanto en material vegetal como en suelo, presentando un límite de detección de 10^3 UFC tanto en hongos como en bacterias.

HERENCIA DE LA TOLERANCIA AL VIRUS DE LA HOJA RIZADA DEL TOMATE DE NUEVA DEHLI (ToLCNDV) EN *Cucurbita moschata*

Sáez, C.¹, Martínez, C.¹, Ferriol, M.², Esteras, C.¹, Picó, B.¹ López C.¹,

¹ Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana (COMAV-UPV), Universitat Politècnica de València, Valencia. E-mails: clopez@upvnet.upv.es mpicosi@btc.upv.es

² Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Valencia.

El virus de la hoja rizada del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV) está causando grandes pérdidas económicas en calabacín (*Cucurbita pepo*), desde su detección en España en el año 2013. Aunque en general menos dañino, este begomovirus también infecta otras especies del género *Cucurbita*, tales como *C. maxima* y *C. moschata*. El empleo de medidas fitosanitarias, estructurales e higiénicas ha reducido su incidencia en invernadero, pero este tipo de medidas por sí solas no aseguran un control eficaz de la enfermedad, por lo que se hace imprescindible el empleo de variedades resistentes. Hasta la fecha, todas las accesiones evaluadas de calabacín han resultado ser altamente susceptibles a la infección viral, lo que pone nuevamente de manifiesto la gran amenaza que supone el ToLCNDV para este cultivo. Sin embargo, recientemente se ha identificado tolerancia en cuatro accesiones de la especie *C. moschata* (Sáez et al., 2016, *Ann Appl Biol* doi:10.1111/aab.12283 en prensa). Para estudiar el control genético de la tolerancia, las dos accesiones con mejor respuesta a la inoculación viral se cruzaron entre sí, y con plantas de una entrada altamente susceptible. Los híbridos F₁ derivados del cruzamiento entre las dos entradas tolerantes fueron asintomáticos, mientras que los híbridos F₁ derivados de los cruzamientos entre las entradas tolerante x susceptible mostraron un comportamiento similar al del parental susceptible. Estos híbridos se autofecundaron y retrocruzaron para obtener las respectivas poblaciones F₂ y BC₁ (retrocruce hacia el parental susceptible) y treinta días después de la inoculación del ToLCNDV se evaluó en las plantas la sintomatología y el contenido viral por PCR cuantitativa. Todas las plantas de las poblaciones F₂ y BC₁ derivadas del cruzamiento entre las dos entradas tolerantes fueron asintomáticas. El ratio de plantas asintomáticas:sintomáticas en las poblaciones generadas tras el cruce de plantas tolerantes x susceptibles fue de 1:3 en la F₂ y de 0:1 en la BC₁. Esta segregación se ajusta a un control monogénico recesivo. Actualmente, se está trabajando en la obtención de marcadores para identificar el gen involucrado en la tolerancia y para facilitar su introgresión en variedades comerciales de *C. moschata*. Esta información será también de utilidad para transferir la tolerancia a calabacín, puesto que *C. moschata* es parcialmente compatible con *C. pepo*.

Agradecimientos al INIA y a la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto E_RTAE2013-00020-C04-03.

MUERTE REGRESIVA DE RAMAS EN EL CULTIVO DEL AGUACATE Y MANGO

Arjona-Girona, I. y López-Herrera, C.J.

Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

Desde hace unos años se viene observando en las plantaciones comerciales de aguacate de la costa sur de España (Málaga y Granada), árboles que presentan chancros en ramas de árboles jóvenes y muerte regresiva en ramas de árboles adultos, en el periodo de Junio a Septiembre. Estos síntomas también se han observado en 2015 en árboles de mango de 2 años cultivados bajo plástico en un invernadero comercial.

En 2014 se prospectaron 14 fincas, recolectando un total de 185 muestras de ramas sintomáticas de aguacate y en 2015 seis muestras de ramas en árboles de mango bajo invernadero. Las muestras se lavaron y se desinfectaron superficialmente con hipoclorito sódico al 20%. Se cortaron trozos pequeños de la parte interna de la corteza y del tejido xilemático de los márgenes de las lesiones y se realizaron aislamientos en PDA acidificado. Las pruebas de patogenicidad se realizaron en ramas de plantas de aguacate de 1 año de edad para los aislados procedentes de aguacate y sobre ramas de mango para los procedentes de este cultivo, observándose la patogenicidad de todos los aislados. La formación de picnidios se indujo en placas de Agar-Agua con acículas de pino e incubadas a 25°C bajo luz UV y se midió la longitud y anchura de las conidias. Posteriormente se realizó la extracción de ADN, amplificación, secuenciación e identificación de los hongos aislados.

Se obtuvo como agentes causales de la enfermedad a diferentes especies como *N. parvum* (42%), *N. australe* (17%), *N. luteum* (15%) y *N. mediterraneum* (2%); *Colletotrichum gloeosporioides* (22%) y *Lasiopodia theobromae* (2%), en aguacate; y *N. parvum* y *N. luteum*, en mango. La incipiente incidencia de estos patógenos constituyen una serie amenaza en el futuro para los cultivos de aguacate y mango en esta área.

SECUENCIACIÓN DEL GENOMA DEL AGENTE DE BIOCONTROL PO212 E IDENTIFICACIÓN DE LA MUTACIÓN RESPONSABLE DE RESISTENCIA A CLORATO

Alonso, D.¹, Alonso, J.M.¹, Villarino, M.², Herranz, Y.², Melgarejo, P.², Espeso, E.A.¹, Larena, I.²

¹CIB-CSIC, Departamento de Biología Celular y Molecular, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid. eespeso@cib.csic.es

²Departamento de Protección Vegetal, SGIT-INIA, Carretera de La Coruña 7, 28040, Madrid. ilarena@inia.es

Penicillium rubens PO212 (anteriormente *P. oxalicum*) es un aislado que ha demostrado ser un eficaz agente de control biológico frente a la marchitez vascular del tomate causada por el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en plantas de tomate en cultivos *in vitro*, en invernadero y en huertos comerciales. Hemos encontrado que PO212 no utiliza correctamente como fuente de nitrógeno los derivados oxidados del nitrógeno mineral, nitratos y nitritos. La secuenciación del genoma de PO212 nos ha permitido identificar la mutación responsable de la resistencia que presenta este hongo a elevadas concentraciones del anión clorato en el medio. El ensamblaje *de novo* del genoma y la comparativa con otros cinco genomas de cepas de *P. rubens* secuenciadas nos ha permitido concluir que PO212 es muy similar a la cepa de referencia *P. rubens* Wisconsin 54-1255. A diferencia de *P. rubens* Wisconsin 54-1255, PO212 presenta mejor crecimiento colonial y además resistencia a concentraciones elevadas de clorato potásico. Se ha identificado a una SNP presente en el gen que codifica para el regulador específico de ruta de asimilación de nitrógeno, NirA, como el responsable de dicho fenotipo mediante estudios de complementación. La cepa PO212 no puede asimilar nitrato ni nitrito como fuentes de nitrógeno debido a un truncamiento temprano en el regulador NirA, la presencia de copias ectópicas de NirA suprimen dicho fenotipo.

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto RTA2013-00060-C05-01

SECUENCIA COMPLETA DE TRES AISLADOS DE *Grapevine Red Globe virus* (GRGV) Y EVIDENCIAS DE UNA PRESENCIA RECURRENTE Y SIMULTÁNEA DE *Grapevine rupestris vein feathering virus* (GRVfV) EN PLANTAS DE VIDCretazzo, E.¹, & Velasco, L.¹¹ IFAPA Centro de Churriana, Cortijo de la Cruz s/n, 29140 Churriana, Málaga.

El análisis masivo de secuencias de RNA (RNAseq) de extractos de plantas de vid de las variedades Graciano (origen Navarra), Godello (Navarra) y Carrasquín (Asturias) ha permitido, por un lado completar la secuencia del genoma de GRGV y por otra evidenciar la frecuente infección simultánea de GRGV y otro miembro de la familia *Tymoviridae*. Se ha secuenciado el genoma completo de tres aislados de GRGV de tres clones de Graciano (T53, T90 y T101) a partir de secuenciación Illumina tras su posterior comprobación/corrección con secuenciación Sanger convencional y análisis de extremos 5'/3' RACE. La secuencia del aislado T90 se ha tomado como referencia. El genoma consta de 6.850 pb, excluyendo el extremo polyA. Presenta dos ORFs, el mayor codifica para los enzimas involucrados en la replicación y el menor para la proteína de la cápside. El análisis comparativo de los tres genomas de GRGV ha permitido identificar otro hipotético ORF, que es distinto al ORF predicho en la misma posición en investigaciones anteriores. El análisis genético comparativo de los tres aislados de Graciano ha permitido identificar secuencias conservadas en los dominios funcionales (metil-transferasa, peptidasa, helicasa y RNA polimerasa), además de los extremos 5' y 3' y de la región en donde se solapan los dos ORFs. Por otro lado, la disponibilidad de las secuencias de los siRNA de otros aislados de GRGV ha permitido identificar una región de alta densidad en correspondencia al ORF2, indicando la presencia de RNA subgenómico tal y como se ha demostrado para TYMV. Mediante análisis Blastx y Blastn de las secuencias de los tres clones de Graciano mencionados, además de los siRNA de tres clones adicionales de Graciano y los mencionados clones de Carrasquín y Godello, hemos detectado la presencia simultánea de otro miembro de la familia *Tymoviridae*, GRVfV, en siete de estas plantas.

EVALUACIÓN DE UNA CEPA DE *Fusarium oxysporum* COMO AGENTE DE CONTROL BIOLÓGICO CONTRA LA VERTICILOSIS DEL OLIVO

Mulero-Aparicio, A., Varo, A., Trapero, A.

Departamento de Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071 Córdoba, España. E-mail: z32muapa@uco.es

La Verticilosis del olivo (VO), causada por el hongo *Verticillium dahliae*, se ha convertido en la enfermedad más grave de este cultivo en la cuenca mediterránea. Ante la falta de un control eficiente de esta enfermedad, el control biológico es una medida a implementar en una estrategia de manejo integrado de la VO. En estudios previos en los que se evaluó la eficacia de más de 200 productos de origen natural contra *Verticillium dahliae*, una cepa no patógena de *Fusarium oxysporum* procedente de corcho, resultó ser uno de los más efectivos. Considerando estos antecedentes, los objetivos de este trabajo fueron estudiar su potencial como Agente de Control Biológico (ACB) y profundizar en su mecanismo de acción. Para determinar su potencial como ACB, se realizó la caracterización fenotípica y biológica de esta cepa y se estudió su efecto sobre el crecimiento micelial, las estructuras de resistencia (microesclerocios) del patógeno y la infección en plántones de olivo. Para elucidar el mecanismo de acción, se evaluó la infección en plántones de olivo utilizando el extracto crudo, el sobrenadante y una suspensión de conidios de la cepa estudiada y el efecto inductor de resistencia mediante aplicación en riego y pulverización foliar del extracto crudo. Dicha cepa mostró una reducción significativa tanto del crecimiento micelial como de la densidad de inóculo en suelo y una reducción de la enfermedad del 100% cuando el extracto crudo fue aplicado al riego. Además, la cepa no resultó patógena en ninguna de las diversas especies vegetales evaluadas. Los requerimientos térmicos y la capacidad de producir clamidosporas mostrados por esta cepa, hacen posible su adaptación a las condiciones climáticas y de suelo propias de las regiones olivareras y están facilitando la evaluación de su potencial como ACB de la VO en condiciones de campo.

EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE *Pinus sylvestris* FRENTE AL CHANCRO RESINOSO DEL PINO (*Fusarium circinatum*)

Flores-Pacheco, J.A.^{1,2}, Martínez-Álvarez, P.¹, Muñoz-Adalia E. J.¹, Martín García, J.¹, Woodward, S.³ Diez, J.J.¹.

¹ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, Universidad de Valladolid-INIA, Aveda. Madrid, nº 44, 34001, Campus “La Yutera”, Palencia, España

² Facultad de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Bluefields Indian & Caribbean University- BICU, Apartado postal N° 88, Avenida Universitaria, Bluefields, Nicaragua

³ The school of biological sciences, University of Aberdeen, Cruickshank Building 2.24, St. Machar Drive, Aberdeen

Correo para correspondencia: juan18asdruhal@gmail.com / japacheco@pvs.uva.es

Teléfono Oficina: (34) 979-108-432 Teléfono Móvil: (34) 640-124-536

El hongo *Fusarium circinatum* (teleomorfo *Gibberella circinatum*) causante del chancro resinoso del pino, es actualmente la enfermedad más importante de masas de coníferas silvestres y comerciales a nivel mundial, ha tenido una expansión global en los últimos años amenazando a países donde aún no se conoce su presencia. En esta investigación se pretende identificar la acción patogénica pre-emergencia y post-emergencia por medio de pruebas de patogenicidad de con veinte procedencias europeas de *Pinus sylvestris* y *Pinus radiata*. Estas fueron inoculadas vía sustrato con tres concentraciones esporales (50, 10³ y 10⁶ esporas/mL) midiendo el porcentaje de germinación (efecto pre-emergencia) y el tiempo de supervivencia (efecto post-emergencia) en las 20 procedencias testadas. Se utilizaron las pruebas de X² y el estimador de sobrevivencia de Kaplan-Meier para analizar los datos ($\alpha=0.005$) por medio del programa estadístico R. Demostramos que indistintamente de la concentración esporal utilizada de *Fusarium circinatum*, este hongo mata la totalidad de las plantas, tanto en pre-emergencia como en post-emergencia, de cada procedencia evaluada, lo que indica que la diversidad geográfica no es un limitante para la expansión de la enfermedad, confirmado que este hongo es altamente virulento para el género *Pinus*. A este factor se le suma la variabilidad climática generada por el calentamiento global que puede favorecer la expansión de la enfermedad en zonas libres de ellas y, que este estudio demostró, con presencia de masas de pinos susceptibles al patógeno. Deben seguirse investigando con otras procedencias, especies e híbridos de *Pinus* para el manejo y control de la enfermedad.

Palabras claves: Patogenicidad, resistencia, procedencias, *Fusarium circinatum*, supervivencia.

EFFECTO SUPRESIVO DEL COMPOST DE ORUJO DE VID FRENTE A LA VERTICILOSIS DEL OLIVO

Mulero-Aparicio, A., Varo, A., Trapero, A.

Departamento de Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071 Córdoba, España. E-mail: z32muapa@uco.es

La Verticilosis del olivo (VO), causada por el hongo *Verticillium dahliae*, es la enfermedad que más importancia ha adquirido en los últimos años en la mayoría de los países olivareros. Ante la falta de un control eficaz de la enfermedad, el uso de enmiendas orgánicas supresivas es una estrategia a implementar dentro de un manejo integrado de la enfermedad. En estudios previos en los que se evaluó la eficacia de más de 200 productos de origen natural contra *V. dahliae*, una enmienda orgánica a base de compost de orujo de vid (COV) resultó ser uno de los más efectivos. El objetivo principal de este trabajo fue determinar el efecto supresivo del COV sobre *V. dahliae*. A partir de dicho compost, se obtuvieron varios extractos y se aislaron un total de 5 cepas fúngicas y 8 cepas bacterianas. Con el COV y los distintos extractos y microorganismos, se evaluó su eficacia frente a la VO en condiciones controladas, considerando su efecto sobre el crecimiento micelial de *V. dahliae*, la inhibición de las estructuras de supervivencia del patógeno (microesclerocios) en suelo naturalmente infestado y la infección de plántones de olivo. El COV mostró una reducción de la enfermedad del 100%. Además, el COV, los extractos de compost y un aislado fúngico redujeron la densidad de inóculo en suelo en un 70, 55 y 62%, respectivamente. Por otro lado, varias cepas bacterianas mostraron una reducción significativa del crecimiento micelial del patógeno por antibiosis, llegando a inhibir el 100% en el caso de una cepa de *Pseudomonas fluorescens*. Según los datos obtenidos en este estudio, el efecto supresivo de esta enmienda orgánica se debe a una combinación de sus propiedades químicas, la presencia de microorganismos que compiten por espacio y nutrientes y a la actividad de antagonistas específicos. Actualmente, se está evaluando en campo el efecto supresivo de esta enmienda contra la VO.

**EFECTO DE LOS MICOVIRUS EN *Fusarium circinatum*:
CRECIMIENTO DE LA COLONIA, GEMINACIÓN ESPORAL Y
PATOGENICIDAD**

Flores-Pacheco, J.A.^{1, 2}, Martínez-Álvarez, P.¹, Pando, V.^{1,3}, Muñoz-Adalia E. J.¹,
Martín-García, J.¹, Díez, J.J.¹.

¹ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, Universidad de Valladolid-INIA,
Avenida Madrid 44, 34001, Campus “La Yutera”, Palencia, España

² Facultad de Recursos Naturales y Medio Ambiente, Bluefields Indian & Caribbean University- BICU, A. P. 88, Avenida Universitaria, Bluefields, Nicaragua

³ Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Universidad de Valladolid,
Avenida Madrid 57, 34004 Palencia, España

Correo para correspondencia: japacheco@pvs.uva.es / juan18asdrubal@gmail.com
Teléfono Oficina: (34) 979-108-432 Teléfono Móvil: (34) 640-124-536

Fusarium circinatum es agente causal de la enfermedad denominada Chancro Resinoso del Pino, que es hasta el día de hoy, la más importante a nivel mundial por las elevadas pérdidas al sector forestal y peligros a los ecosistemas. Es por ello y los recientes avances en esta área se plantea la necesidad de evaluar la afectación de estos micovirus en el comportamiento de *Fusarium circinatum* partiendo de la evaluación de su crecimiento en colonias, la germinación esporal y el grado de afectación en la planta. Para ello se han testado 7 aislados libres del hongo contra 7 con presencia de uno o dos virus. A todo esto, se sumó un hongo control. Se estimó el área de crecimiento aislado y la capacidad de germinación esporal (6, 12, 24 horas). El grado de afectación en la planta inoculadas con suspensión esporal 10^6 esporas/mL midiendo la necrosis. La comparación tanto entre aislados individuales como en función de la presencia o ausencia de micovirus brinda diferencia significativa para la longitud de la necrosis relativa. De manera similar se comportan las variables crecimiento del área y capacidad de germinación de esporas, siendo los aislados con co-infección los que generan esta variabilidad. Se presume la afectación al metabolismo de las proteínas lacasas por parte de la co-infección disminuyendo la capacidad patogénica del hongo. Se hace necesario la continuidad de estudios en este sentido en base a la identificación de una aparente hipovirulencia generada por la co-infección de los micovirus en *Fusarium circinatum*.

Palabras clave: Virulencia, afectación, *Gibberella circinata*, metabolismo, control biológico.

DENSIDAD DE INÓCULO DE *Verticillium dahliae* EN LA PENÍNSULA IBÉRICA Y SU RELACIÓN CON LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL SUELO

Heis, J., Pérez-Rodríguez, M., Roca, L.F., López-Escudero, F.J.

Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071, Córdoba, Spain.

Desde el año 2000, el Grupo de Patología Agroforestal AGR-216 ha realizado análisis para la cuantificación de la densidad de inóculo (DI) de *Verticillium dahliae* en el suelo (Tamizado húmedo-medio semiselectivo APSM). Las muestras correspondían a suelos de olivar o sobre los cuales se iba a establecer esta especie con antecedentes de cultivos huéspedes del patógeno. De 176 muestras analizadas, la DI media ascendió a 7.8 microesclerocios por gramo de suelo (MS/g). La DI y número de muestras analizadas por zonas resultó en: Portugal (0.07 MS/g, de 42), España (3.8 MS/g, de 134), Andalucía (6.3 MS/g, de 113), Valle del Guadalquivir (7.0 MS/g, de 75), resto de Andalucía (4.9 MS/g, de 38), y resto de España sin Andalucía (1.4 MS/g, de 21). Adicionalmente, se disponía del análisis físico-químico de 65 de las muestras procedentes del Valle del Guadalquivir, por lo que se estudió la relación entre la DI y los valores de los parámetros principales (textura, CIC, pH, materia orgánica, etc). Los resultados indican que suelos con DI baja (un 34%, con media de 3.1 MS/g) eran de textura arenosa, con valores de Ca, Mg y K de 11.5, 1.43 y 0.71 meq/100 gramos, respectivamente. Contrariamente, las muestras con DI significativamente más elevadas (el 13.7%, con media de 16.1 MS/g) eran de textura arcillosa con valores de Ca, Mg y K de 40.9, 6.45 y 1.7 meq/100 gramos, respectivamente. El resto de las muestras (52.3%) presentaban una DI media de 6.8 MS/g, que no fue significativamente diferente al valor medio de los otros dos grupos, presentando textura arcillo-arenosa. Concluimos que, en el Valle del Guadalquivir, los suelos de textura arcillosa con una CIC alta presentan una DI significativamente más elevada que los suelos arenosos con una concentración de cationes intercambiables (nutrientes) más baja. Los demás parámetros analizados no resultaron significativos.

INFLUENCIA DE LA FERTIRRIGACIÓN EN LA VERTICILOSIS DEL OLIVO

Pérez-Rodríguez, M., Roca, L.F., López-Escudero, F.J.

Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071, Córdoba, Spain.

Las observaciones de agricultores y técnicos en huéspedes herbáceos y leñosos afectados por verticilosis apuntan a que elevadas dosis de N, desequilibrios N/K y riegos frecuentes, favorecen las infecciones y el desarrollo de la enfermedad. Se ha evaluado la influencia de la fertilización y su interacción con la frecuencia de riego sobre el desarrollo de la Verticilosis del olivo (VO). En febrero 2015, se estableció un ensayo en microparcelas con dos suelos de textura diferente, evaluando las combinaciones de tres tratamientos de fertilización (dos abonos hidrosolubles, uno a base de NO_3Ca y un abono N-P-K, 15%-15%-15%; y un tratamiento sin fertilización), más dos tratamientos de riego (diario y deficitario). Los tratamientos se aplicaron mediante fertirrigación evaluándose el cultivar susceptible Picual. Tras 11 meses de evaluaciones periódicas, en el suelo de textura arcillosa, la incidencia y mortalidad finales en las plantas sometidas al tratamiento con NO_3Ca + riego diario fue del 100% y 37%, respectivamente, mientras que en el suelo de textura franco-arenosa fue del 100% y 85.2%. En el suelo arcilloso, el valor final del área bajo la curva de progreso de la enfermedad fue significativamente más elevado en las plantas sometidas al abonado de NO_3Ca (70%) respecto a las no fertilizadas o abonadas con N-P-K (37.1% y 34.1%, respectivamente). Este valor en el suelo franco arenoso fue significativamente el más elevado en el tratamiento de NO_3Ca +riego diario (94.3%). Esta área fue significativamente más elevada (61.1%) en el tratamiento N-P-K+riego diario que en los tratamientos con NO_3Ca y N-P-K con riego deficitario y los tratamientos sin fertilizar regados diaria y deficitariamente (44.9%; 42.6%, 37.8% y 9.6%, respectivamente). En este trabajo se puede concluir que la aplicación de abono o la aplicación de abono con riegos de frecuencia diaria en suelos naturalmente infestados incrementa el desarrollo de VO en 'Picual'.

MATING TYPE RATIOS AND PATHOGENY IN *Diplodia sapinea* (Fr.) POPULATION: COMPARATIVE ANALYSIS

Manzanos, T.¹, Aragonés, A.¹, Stanosz, G.R.², Smith, D.R.², Ritter E.¹, Iturritxa, E.¹

¹Neiker, Granja Modelo Arkaute, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz, Spain. tmanzanos@neiker.eus

²Department of Forest and Wildlife Ecology, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI, USA.

Diplodia sapinea (Fr.) Fuckel is an opportunistic pathogen of *Pinus* species. Several studies about taxonomy, impact and epidemiology have been conducted in past years and have provided useful information and have raised new issues. The main aim of this study is the knowledge of the potential of genetic exchange and the virulence of this organism that can persist in healthy tissues of asymptomatic trees. This disease produces a considerable impact on plantations resulting in significant economic losses. To date, no sexual state has been observed. Thus, *D. sapinea* has been considered to be asexual.

A collection of 175 isolates among which are 147 strains collected from *Pinus radiata* plantations in Basque Country (Spain) and 28 strains from different countries was included in this work.

Mating types ratios were analyzed and compared using the structure of the MAT locus (MAT-1 and MAT-2) and inoculations of *Pinus radiata* seedling were performed in a biosafety greenhouse (P2) to define and compare their virulence.

The pathogenicity of all strains in the collection was confirmed and the frequency of occurrence of both idiomorphs was close to 1:1. This result could suggest sexual reproducing behavior.

DETECCIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE FITOPLASMAS EN ZANAHORIA Y EN EL PSÍLIDO *Bactericera trigonica* EN TENERIFE

Quintana González de Chaves, M.¹, Giménez Mariño, C.², Siverio de la Rosa, F.¹

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

² Dpto. Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias. Sección Biología. Universidad de La Laguna. 38206 La Laguna, Tenerife.

En España se detectaron por primera vez fitoplasmas en cultivos de zanahoria con síntomas de amarilleo y enrojecimiento de hojas en 1999, que en Canarias se identificaron como stolbur y en Segovia como aster yellows, y se asociaron al psílido *Bactericera trigonica* como insecto vector. Los síntomas descritos para estos dos fitoplasmas son similares a los causados por la bacteria Gram negativa ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ (CaLsol), citada por primera vez en este cultivo en España en 2012, por lo que no es posible distinguir en campo qué patógeno los ocasiona. En este trabajo se analizaron muestras de insectos y plantas recogidas en parcelas de zanahoria de Tenerife los años 2013 y 2014, que anteriormente habían sido analizadas para la detección de CaLsol. En el estudio se incluyeron además muestras de las islas de Gran Canaria, La Palma y Lanzarote. Las muestras se prepararon utilizando dos procedimientos de extracción de ADN para cada tipo de muestra (planta e insecto) y se analizaron mediante PCR en tiempo real para la detección de fitoplasmas. Se detectaron fitoplasmas en 31 de las 45 parcelas (68,9%), en 62 de las 132 plantas (47,0%) y en 54 de los 116 insectos (46,5%) analizados. Estos resultados permitieron confirmar la presencia de fitoplasmas en todos los municipios visitados de Tenerife, en los dos municipios de la isla de Gran Canaria (3 de 4 parcelas y 6 de las 9 plantas analizadas) y en el único municipio de La Palma que se prospectó (2 de 3 plantas analizadas). No se detectaron fitoplasmas en las muestras de la isla de Lanzarote. Se encontraron simultáneamente fitoplasmas y CaLsol en el 24,1% de las plantas y en el 14,7% de los psílicos analizados.

BIOCONTROL OF *Fusarium circinatum* INFECTION IN *Pinus radiata*

Iturrutxa E.¹, Trask T.², Mesanza N.¹, Raposo R.³, Elvira-Recuenco M.³, Patten C.L.².
eiturrutxa@neiker.eus

¹ Plant Protection, Neiker Tecnalia, Apartado 46, Vitoria Gasteiz, Álava, 01080, Spain

² Department of Biology, University of New Brunswick, PO Box 4400, Fredericton, NB, E3B 5A3, Canada.

³ INIA-CIFOR, Ctra. La Coruña Km 7.5, 28040 Madrid Spain

Fusarium circinatum Nirenberg & O'Donnell, the pitch canker fungus, is an important problem of pine plantations worldwide and constitutes a risk to forestry production.

Biological control offers an alternative to the chemical products, contributing to minimize the noxious impact for human health and environment.

Biocontrol bacteria and essential oils were tested against *Fusarium circinatum* *in vitro* and *in vivo*. *Pseudomonas fluorescens* and two different strains of *Erwinia billingiae* reduced the growth of the fungus *in vitro*, and caused a decrease in the density of the mycelial mat.

In *P. radiata* seedlings the length of lesion was reduced in a 22% to 25% by the same bacterial strains. Biocontrol bacteria did not cause any inhibition effect against *Diplodia pinea* or *Neofusicoccum parvum* *in vitro*. Direct application of cinnamon and clove essential oils to wounds in branches of young adult *P. radiata* trees limited the growth of *F. circinatum*. Cinnamon oil (10% v/v) reduced the lesion length by 36%, clove oil (15% v/v) reduced the length of the lesions by 48% and the combination of both reduced the lesion size by 40%.

***Pilidium concavum*, ASCOMICETO ASOCIADO A PODREDUMBRE DE RACIMO EN *Vitis vinifera* ‘Albariño’**

Aguín, O.¹, Ferreiroa, V.¹, González-Jartín, J.², Alfonso, A.², Mansilla, J.P.¹, Sainz, M.J.⁴

¹ Estación Fitopatológica de Areeiro, Deputación de Pontevedra, Subida a la Robleda s/n, 36153 Pontevedra, España. olga.aguin@depo.es

² Departamento de Farmacología, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n, 27002 Lugo, España. mj.sainz@usc.es

³ Departamento de Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n, 27002 Lugo, España. mj.sainz@usc.es

La podredumbre de racimos de *Vitis vinifera* está causada por un complejo de hongos filamentosos, de los que el más frecuente es *Botrytis cinerea*, agente de la podredumbre gris. Otros hongos asociados a la podredumbre de la uva son especies de *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Elsinoë*, *Greeneria*, *Guignardia*, *Penicillium* y *Rhizopus*. Algunos de estos hongos producen micotoxinas y/o malos sabores, que disminuyen de forma importante la calidad organoléptica del vino. En un estudio de la micoflora asociada a podredumbre de racimo en *V. vinifera* ‘Albariño’, se encontraron racimos con uvas en pudrición que mostraban masas rosadas en una plantación de la provincia de Pontevedra en octubre de 2014. Se obtuvieron aislados monospóricos en PDA que se identificaron mediante características morfológicas y mediante la secuenciación y análisis filogenético de la región ITS del ADNr. En oscuridad, los aislados formaron un micelio entre beige-rosado y blanquecino que creció lentamente. Después de dos semanas de crecimiento bajo luz natural, los cultivos desarrollaron un micelio mullido y numerosos conidiomata semiesféricos discoideos que exudaron una masa mucoide, inicialmente de color rosa después marrón, que contenía numerosos conidios, característicos de *Pilidium concavum* (Desm.) Höhn. Se estudió la patogenicidad de este hongo en uvas de racimos comerciales de una variedad de uva blanca (‘Regal Seedless’) y una de uva tinta (‘Red Globe’) de *V. vinifera*. Una semana después de la inoculación fúngica, las uvas inoculadas presentaron lesiones de color pardo (bronceado) en las que se observaron conidiomatas de color rosa. Las lesiones progresaron hasta la pudrición total de las uvas. *Pilidium concavum* debería por tanto incluirse dentro del complejo de hongos asociado a la podredumbre de racimo en *V. vinifera*.

NATIVE BACTERIA AS BIOCONTROL AGENTS OF *Heterobasidion annosum* s.s. AND *Armillaria mellea* INFECTION OF *Pinus radiata*

Mesanza N.¹, Eugenia Iturrutxa¹ and Patten C.L.²

eiturrutxa@neiker.eus

¹ *Department of Biology, University of New Brunswick, PO Box 4400, Fredericton, NB, E3B 5A3, Canada.*

² *Plant Protection, Neiker Tecnalia, Apartado 46, Vitoria Gasteiz, Álava, 01080, Spain.*

Biocontrol bacteria *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus simplex* and two different strains of *Erwinia billingiae* were isolated from the rhizosphere of a healthy tree located in a *Pinus radiata* plantation with high presence of fungal pathogens. The bacteria were selected based on a high level of antagonism in vitro against *P. radiata* pathogens *Heterobasidion annosum* s.s. (68.6-99.3% area inhibition percent (AIP)) and *Armillaria mellea* (64.8%-94.2% AIP). None of the bacteria were pathogenic for one-year old seedlings of *P. radiata*. *P. fluorescens* and *B. simplex* reduced the effects of *H. annosum* and *A. mellea* infection on *P. radiata*. While *H. annosum* was detected in 90% of seedlings that were not inoculated with bacteria, detection was reduced to 40% and 55% of seedlings treated with *P. fluorescens* and *B. simplex*, respectively. Following infection with *A. mellea*, 54% of the seedlings that were not treated with bacteria died, whereas for those treated with *P. fluorescens*, *B. simplex* and the two strains of *E. billingiae*, the proportion of plants that died was 13.1%, 7.1%, 3.6 and 11.6% respectively.

PRESENCIA DE *Xiphinema* sp., *Xiphinema index* Y DE *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) EN PARCELAS DE REESTRUCTURACIÓN DEL VIÑEDO CASTELLANO MANCHEGO

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

Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF), Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP). Avda. Gregorio Arcos s/n. 02006 Albacete, España. rmg.itap@dipualba.es

El 4 de diciembre de 2013 fue publicada la última Orden reguladora para la concesión y gestión de las ayudas a los planes de reestructuración y reconversión de viñedo de Castilla La Mancha; en la misma se señala que la operación de desinfección solo será subvencionable si, fruto de un análisis en un laboratorio oficialmente reconocido o con algún alcance acreditado según UNE-EN ISO/IEC 17025, se demostrase su necesidad y sea prescrito por el Director Técnico del Plan de Reestructuración. Por este motivo, en 2014 y 2015 se recibieron más de 850 muestras de suelo para el diagnóstico de nematodos; de éstas, aproximadamente el 15% fue acompañada de muestra vegetal (parte aérea y/o raíces), para el diagnóstico del virus GFLV. La mayoría de las muestras procedía de las provincias de Albacete y Cuenca y, en menor medida, Ciudad Real. La extracción de nematodos se llevó a cabo mediante una optimización del método de Flegg a partir de 200cm³, mientras que el diagnóstico del virus GFLV se realizó mediante la técnica ELISA. En el 56% de las muestras de tierra se detectó presencia de *Xiphinema* sp., con un nivel superior a 20 individuos en 200cm³ en el 8% de las mismas. *X. index* fue diagnosticado en el 9% del total de muestras de suelo analizadas. El virus GFLV fue detectado en el 50% de las muestras vegetales. Aproximadamente, un tercio de las muestras positivas de GFLV provenían de una parcela donde se había detectado su nematodo vector, *X. index*. En la provincia de Cuenca se detectó la mayoría de parcelas positivas del virus GFLV con presencia del nematodo vector en el suelo (el 75% del total).

SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE CHANCRO DE LA VID CAUSADO POR *Aspergillus* (*Aspergillus vine canker*) EN VIÑEDOS CASTELLANO- MANCHEGOS

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

Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF), Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP). Avda. Gregorio Arcos s/n. 02006 Albacete, España. rmg.itap@dipualba.es

En 2015 y 2016, procedentes de las provincias de Albacete, Cuenca y Ciudad Real, se han recibido varias muestras de plantas jóvenes de vid que presentan anomalías en la parte aérea, con zonas agrietadas e hinchadas. Internamente se detectaron tejidos necrosados, mientras que externamente se observó presencia significativa de un gran número de esporas negras, identificándose el hongo *Aspergillus* sp. Las plantas afectadas habían mostrado senescencia prematura. En los aislamientos de hongos efectuados se detectó asimismo *Aspergillus*, tanto en las zonas de avance de los chancros como en el interior de la madera de la parte aérea así como del portainjerto. Tanto los síntomas observados como los diagnósticos efectuados apuntan a la enfermedad denominada *Aspergillus vine canker* (chancro de la vid causada por *Aspergillus*), ocasionada por *Aspergillus niger* y, menos frecuentemente, por *A. carbonarius*. Esta enfermedad fue detectada por primera vez en California en 1989, habiendo sido citada en Europa en 2008, en ambos casos sobre uva de mesa. Según la bibliografía, la infección parece que se inicia a partir de grietas producidas por el crecimiento rápido de las plantas o a partir de heridas causadas al eliminar los tallos laterales. Las muestras recibidas procedían de parcelas en las cuales las plantas habían sido protegidas con presencia de protectores antiroedores cerrados. Por tanto, se sospecha que los citados protectores han producido condiciones favorables para el ataque de *Aspergillus*. Se aconseja, por tanto, utilizar protectores que estén suficientemente aireados mediante agujeros, así como su eliminación en cuanto no sean necesarios.

EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS Y EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO CAUSADA POR *Colletotrichum* spp.

Agustí-Brisach, C.¹, Moral, J.^{1,2}, Agalliu, G¹., Roca, L.F¹., Pérez-Rodríguez, M¹., Romero, J.¹, Oliveira, R¹., Trapero, A¹.

¹ Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, España.

² Department of Plant Pathology, University of California Davis, Kearney Agricultural Research and Extension Center, 93648 Parlier, CA, USA.

La Antracnosis del olivo, causada por *Colletotrichum* spp., es la enfermedad más importante de la aceituna. Su control se basa casi exclusivamente en la utilización de fungicidas cúpricos durante el otoño. En busca de alternativas de control, se evaluaron un total de 51 productos entre compuestos cúpricos, fungicidas protectores y sistémicos, y extractos vegetales. Los productos se evaluaron según su eficacia en la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de esporas de aislados de *C. godetiae* y *C. nymphaeae*, especies dominantes de la enfermedad en Andalucía. Además, se evaluó su eficacia contra la infección del patógeno en bioensayos con aceitunas. Finalmente, se estudió el efecto del oxiclورو de cobre utilizando plantones con aceituna. En general, los fungicidas sistémicos y el protector folpet fueron los productos que causaron una mayor inhibición del crecimiento micelial de las especies del patógeno. El sulfato de cobre y el fungicida sistémico trifloxistrobin fueron los productos que causaron una mayor inhibición de la germinación de esporas. En los bioensayos utilizando aceitunas, los fungicidas sistémicos formulados a base de tebuconazol o trifloxistrobin seguidos del óxido cuproso o el sulfato de cobre fueron los más eficaces. Por el contrario, las aceitunas tratadas con extractos vegetales no mostraron diferencias significativas con las aceitunas control sin tratar. Finalmente, en plantones de olivo, una semana tras la inoculación, se observó una reducción de la infección del 100%, mientras que a las cuatro semanas la reducción sólo fue del 21,3% en comparación con el control. Tras este periodo todos los frutos y ramas con frutos afectados mostraron síntomas de la enfermedad. Actualmente, continuamos evaluando productos de distinta naturaleza para complementar a los fungicidas cúpricos. Un mejor conocimiento de la eficacia de los distintos compuestos permitirá un control de la Antracnosis más eficaz y con un menor impacto ambiental.

ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE ETIOLOGÍA, RESISTENCIA VARIETAL Y CONTROL DE *Sclerotium rolfsii*, AGENTE CAUSAL DE LA PODREDUMBRE BLANDA DE PATATA EN POSTCOSECHA

C. Agustí-Brisach, L.F. Roca, M.C. Raya, F. Luque, J., Romero, A. Trapero.

Departamento de Agronomía, ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C-4, 14071, Córdoba, España.

En 2015, se detectaron tubérculos de patata procedentes de campos de Sevilla afectados por una pudrición blanda que se manifestaba en post-cosecha pocos días tras su almacenamiento. Muestras de patatas afectadas se incubaron en cámara húmeda y se realizaron aislamientos en medio PDA. Los aislados fúngicos obtenidos se caracterizaron morfológica y molecularmente mediante secuenciación de la ITS, siendo identificados como *Sclerotium rolfsii*. Posteriormente se probó su patogenicidad en patata obteniéndose resultados positivos. Las patatas se inocularon con discos de agar con micelio (7 mm diámetro) depositados sobre la superficie de la patata, sobre la que previamente se hizo una herida con un sacabocados del mismo diámetro. Además, se tomaron muestras de suelo de 4 fincas afectadas para detectar el número de esclerocios por muestra mediante el uso de cebos de *Arisarum vulgare*. Se evaluaron un total de 30 muestras de suelo, de las cuales sólo en 7 se detectaron esclerocios en valores comprendidos entre 1 y 3 esclerocios por muestra (400 ml de suelo). La resistencia varietal a *S. rolfsii* se evaluó sobre cinco variedades de patata: ‘Elfe’, ‘Inova’, ‘Marabel’, ‘Música’ y ‘Soprano’. Lotes de patatas de cada variedad se inocularon tal como se describe anteriormente y se incubaron en cámara húmeda durante una semana. La variedad ‘Música’ fue la más susceptible mostrando una superficie de área afectada del 37,6 %, mientras que las variedades ‘Inova’ (13,5%) y ‘Soprano’ (12,2%) fueron las más resistentes. Asimismo, se evaluaron un total de 16 productos fungicidas entre cúpricos, sistémicos, naturales y sales de Ca frente al patógeno. Difenconazol y flutolanil resultaron ser las materias activas más eficaces, junto con un producto formulado a base de *Trichoderma* spp., siendo seleccionados para realizar ensayos en campo. Estos resultados son de gran interés para establecer estrategias de control eficaces contra esta nueva enfermedad.

VirusSeq, UN SERVICIO DE IDENTIFICACIÓN DE VIRUS A PARTIR DE SECUENCIAS MÚLTIPLES

Velasco, L.¹, Guerrero, D.², Claros, M. G.², Cretazzo, E.¹

¹ IFAPA Centro de Churriana, Cortijo de la Cruz s/n, 29140 Churriana, Málaga. E-mail: leonardo.velasco@juntadeandalucia.es

² Dpto. Biología Molecular y Bioquímica & Plataforma Andaluza de Bioinformática/SCBI, Universidad de Málaga.

La cada vez mayor disponibilidad de servicios de secuenciación masiva y la creciente reducción de sus costes hace que el análisis de secuencias obtenidas en esas plataformas sea una alternativa viable para realizar diagnósticos a partir de muestras problema en la que se quiera identificar la presencia de patógenos de origen viral. El acceso al NCBI para análisis masivo de múltiples secuencias mediante BLASTx o BLASTn está severamente limitado y en la práctica no es funcional. Surge así la necesidad de una herramienta independiente que, a partir de las secuencias virales disponibles por ftp en el NCBI, sea capaz de realizar dichas búsquedas de manera asequible y eficiente. Por esta razón hemos habilitado el servicio VirusSeq (<http://www.scbi.uma.es/ingebiol/session/new/viruseq>) en el portal de la Plataforma Andaluza de Bioinformática, soportado con el gestor de herramientas web InGeBiol. Las bases de datos virales indexadas disponibles actualmente son: viral.1.1.genomic, viral.2.1.genomic, viral.1.protein y viral.2.protein. Sobre ellas se puede ejecutar el programa BLASTx 2.2.30+ para localizar las secuencias de virus presente en un conjunto de secuencias. Al servicio, que es una herramienta web, se accede tras darse de alta como usuario del SCBI (o como invitado aportando el e-mail). Se permite la subida de archivos en formato fasta y se puede elegir: la base de datos de proteínas para BLASTx (redundant o non-redundant), el *E-value* para BLASTn y BLASTx y el número de hits (targets) por cada secuencia (query) que se requieren. El resultado se obtiene visualmente en la propia web al cabo de pocos segundos en forma de lista. También se puede descargar un archivo de texto con los resultados detallados. Actualmente, el servicio admite archivos de hasta 200 megabytes, lo cual representa un límite más que satisfactorio para subir archivos de contigs generado previamente a partir de archivos de lecturas totales procedente de secuenciación masiva.

EFICACIA DE PRODUCTOS CON DIFERENTE MODO DE ACCIÓN EN EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA DE FRUTALES

Moragrega, C., Cabrefiga, J., Ruz, L., Gascón, B., Serra, A., Llorente, I., Montesinos, E.

Institut de Tecnologia Agroalimentària-CIDSAV-XaRTA, Universitat de Girona, C/ Maria Aurèlia Capmany 61, 17071, Girona. concepcio.moragrega@udg.edu

El control de las bacteriosis de los frutales se basa principalmente en la utilización de compuestos cúpricos, ya que los antibióticos no están autorizados, y en activadores de defensas de las plantas, extractos vegetales o agentes de control biológico. Sin embargo, estos productos no han sido suficientemente evaluados, especialmente en el control de patógenos de cuarentena como *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*, *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* y *Xanthomonas fragariae*.

En este trabajo se han evaluado productos con diferente modo de acción, incluyendo derivados cúpricos, antibióticos (kasugamicina, estreptomycin), extractos vegetales (mimosa y tomillo), activadores de defensas en las plantas (benzotiadiazol, harpina, fosetil-Al, laminarina, quitosano) y el agente de control biológico *B. subtilis* QST713. Se determinó la actividad antimicrobiana *in vitro* frente a los tres patógenos y la eficacia de control de la enfermedad en condiciones de invernadero.

Los activadores de defensas en las plantas no mostraron actividad antibacteriana *in vitro*. Según su concentración mínima inhibitoria (CMI) los más eficaces fueron los extractos vegetales, estreptomycin e hidróxido de cobre, y los tres patógenos mostraron una respuesta similar.

Los ensayos en planta en condiciones controladas de invernadero se realizaron a las concentraciones y cadencias comerciales. La eficacia de los compuestos fue variable en función del patosistema. El fosetil-Al, *B. subtilis* QST713, quitosano, extracto de mimosa y kasugamicina fueron efectivos en el control de las infecciones de *X. arboricola* pv. *pruni* en melocotonero. En fresa, los compuestos más eficaces en el control de *X. fragariae* fueron benzotiadiazol, extracto de tomillo y kasugamicina. El benzotiadiazol también se mostró eficaz en el control de *P. syringae* pv. *actinidiae* en kiwi. En base a estos resultados, puede considerarse que un número reducido de productos existentes son efectivos en el control de las tres enfermedades de cuarentena.

Financiado por los proyectos DROPSA FP7-KBBE.2013.1.2-613678 de la UE y AGL2013-41405-R del MINECO.

CONTROL QUÍMICO DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL ALMENDRO BAJO DIFERENTES CONDICIONES CLIMÁTICAS

Lovera, M.¹, Arquero, O.¹, Roca, L.F.², Raya, M.C.², López, A.², Trapero, A.²

¹ IFAPA “Alameda del Obispo”. Avda. Menéndez Pidal s/n 14080 Córdoba. E-mail: maria.lovera@juntadeandalucia.es

² Dpto. Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio C-4, 14071, Córdoba. E-mail: trapero@uco.es

La expansión e intensificación del cultivo del almendro en los últimos años ha motivado el incremento de la incidencia de enfermedades no tan frecuentes en las zonas tradicionales de cultivo, destacando entre ellas la antracnosis, causada por *Colletotrichum* spp., y la mancha ocre debida a *Polystigma amygdalinum*. El objetivo del presente trabajo fue establecer un programa de gestión integrada de las principales enfermedades que afectan al almendro, lepra, moniliosis, cribado, antracnosis y mancha ocre, en plantaciones comerciales de Andalucía. Para ello, durante los años 2014 y 2015 se han establecido ensayos de evaluación de fungicidas en fincas comerciales situadas en cuatro zonas, bajo diferentes condiciones edafoclimáticas. Se han ensayado productos cúpricos, orgánicos protectores y sistémicos. Los fungicidas se seleccionaron en base a su eficacia contra los principales patógenos en bioensayos previos con manzanas. El diseño experimental fue en bloques al azar con cuatro bloques de 4-10 árboles en cada bloque. La aplicación de los productos se realizó con atomizador y los momentos de tratamiento se determinaron en función de las condiciones climáticas y estados fenológicos de los árboles. La evaluación de las enfermedades se realizó atendiendo a la incidencia y severidad de las mismas, desarrollándose escalas de severidad adecuadas a cada sintomatología. También se llevó a cabo la medición del contenido de clorofila en hojas. La mayoría de los productos mostraron efecto preventivo frente a las enfermedades evaluadas, en comparación con el tratamiento testigo. Hubo una interacción muy marcada entre tratamientos fungicidas y enfermedad, con la excepción de las mezclas de triazoles y estrobilurinas que resultaron eficaces en todas las enfermedades. La moniliosis fue la enfermedad que presentó mayor dificultad para su control con los fungicidas ensayados. Los valores más altos de clorofila en hoja se observaron en el tratamiento boscalida+piraclostrobin con un mayor número de aplicaciones.

INTERACCIÓN DE AISLADOS DE *Bacillus cereus* RESPONSABLES DE TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS CON LA FILOSFERA.

Antequera-Gómez, M.¹, de Vicente A.², Romero, D.¹

¹IHSM-UMA-CSIC. Departamento de Microbiología, Centro de Supercomputación y Bioinnovación, Universidad de Málaga, Calle Severo Ochoa 34 (Parque Tecnológico de Andalucía), 29590 Málaga, España. marialan@uma.es

²IHSM-UMA-CSIC. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Campus de Teatinos, 29071, Málaga, España

Bacillus cereus es un grupo heterogéneo de bacterias Gram-positivas que incluyen cepas patógenas responsables de contaminaciones en la industria alimentaria y médica, así como intoxicaciones alimentarias. Dependiendo de los síntomas asociados a la intoxicación, las cepas patógenas de *B. cereus* pueden clasificarse en enterotoxigénicas y eméticas, existiendo también cepas ambientales con actividad de biocontrol. Además, esta bacteria forma biopelículas, lo que puede contribuir a una eficiente colonización de superficies incluidas las de plantas, un aspecto poco estudiado del ciclo de vida de *B. cereus*.

En este trabajo se seleccionaron 10 aislados clínicos y ambientales de *B. cereus*, debido a las diferencias en su capacidad para formar biopelículas *in vitro*. Para estudiar la ecología de estas cepas, se inocularon hojas de plantas de melón y pepino con suspensiones de 10^8 ufc/ml de cada cepa. La dinámica de población demostró que prácticamente todos los aislados persistían en las hojas a niveles de 10^3 ufc/g de hoja, aunque no parecía existir un patrón asociado al origen del aislamiento. Sin embargo, pudimos observar tres cinéticas de esporulación diferentes: esporulación temprana de la población, esporulación tardía y prácticamente ausencia de esporulación. El seguimiento de la distribución espacial de las bacterias mediante microscopía electrónica de barrido mostró la existencia de colonias formadas por varias capas de células unidas entre sí por una especie de matriz, sugerente de biopelículas bacterianas.

Nuestros resultados prevén la capacidad de cepas patógenas de humanos de *B. cereus* de vivir en la filosfera de plantas como lo haría una cepa de origen ambiental, usando para ello la formación de biopelículas, la esporulación o una combinación de ambas estrategias. Si bien, las hojas de las plantas ensayadas no entrarían en la cadena alimenticia del hombre, si representarían un reservorio importante desde donde podrían pasar a los frutos que se consumen.

Proyecto financiado por European Research Council-Starting Grant-2014 (8.06 UE/60.8003).

HAPLOTIPOS DE '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' IDENTIFICADOS EN ESPAÑA AFECTANDO A DIFERENTES UMBELÍFERAS CULTIVADAS

Alfaro-Fernández, A.¹, Hernández Llopis, D.¹, Sanjuán, S.², Ferrándiz, J.C.², Font, M.I.¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n (Edificio 3k-1Planta), 46022 Valencia, España. analfer1@doctor.upv.es

² Agrícola Villena Coop. V., Crta. del Puerto s/n, 03400-Villena, Alicante, España.

'*Candidatus Liberibacter solanacearum*' es una bacteria Gram-negativa que se detectó en España afectando a zanahoria y apio en 2012 y 2014, respectivamente. Se han descrito cinco haplotipos de la bacteria (LsoA, LsoB, LsoC, LsoD y LsoE). Los haplotipos LsoA y LsoB afectan a solanáceas en América y están incluidos en la lista A1 de la EPPO, y por lo tanto son considerados por este organismo como patógeno de cuarentena. En cambio, los otros tres haplotipos (LsoC, LsoD y LsoE) afectan a umbelíferas. LsoC ha sido descrito en zanahoria en el centro y norte de Europa y se transmite por el psílido *Trioza apicalis*. LsoD y LsoE se han detectado en el sur de Europa y Marruecos afectando a zanahoria y apio, asociados al vector *Bactericera trigonica*. En este trabajo se recogieron diferentes aislados de '*Ca. L. solanacearum*' en seis provincias españolas (Alicante, Albacete, La Rioja, Murcia, Segovia y Tenerife) desde 2008 a 2015 que afectaban a diferentes hospedantes de la familia *Apiaceae* (zanahoria, apio, chirivía y perejil). Se amplificaron y secuenciaron fragmentos de tres genes diferentes (RNA ribosomal del 16S, la región intergénica 16-23S junto con un fragmento del RNA ribosomal 23S y el RNA ribosomal del 50S) y mediante un análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, *Single nucleotide polymorphisms*) se determinaron los haplotipos de los diferentes aislados. Los resultados obtenidos en este estudio revelan que hasta el año 2010, todos los aislados estudiados pertenecían al haplotipo LsoD, pero a partir de ese año se empezaron a detectar los haplotipos LsoD y LsoE en apio, zanahoria y chirivía. No parece haber especificidad de los haplotipos LsoD y LsoE con el hospedante concreto, pero sí la introducción en el año 2011 del haplotipo LsoE en España, que a partir de ese momento coexistía con el LsoD.

***Spiroplasma citri*: DETECCIÓN MEDIANTE PCR A TIEMPO REAL Y TRANSMISIÓN POR SEMILLA DE ZANAHORIA**

Alfaro-Fernández, A.¹, I. Ibañez¹, E. Bertolini²⁻³, D. Hernández-Llopis¹, Sanjuán, S.⁴, Ferrándiz, J.C.⁴, M. Cambra², M. I. Font¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universitat Politècnica de València (IAM-UPV). Camino de Vera s/n. 46022 Valencia, España. analfer1@doctor.upv.es

² Plant Protection and Biotechnology Center, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada a Náquera, Km 5. 46113 Moncada, Valencia, España.

³ Departamento de Fitossanidade. Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Avenida Bento Gonçalves 7712. 91540-000 Porto Alegre, Brasil.

⁴ Agrícola Villena Coop. V., Crta. del Puerto s/n, 03400-Villena, Alicante, España.

Spiroplasma citri es un mollicute que causa la enfermedad del stubborn en los cítricos. Entre 2010 y 2015 fue detectado en España en cultivos de zanahoria y apio, respectivamente, que presentaban desórdenes vegetativos. En este trabajo se desarrolló un protocolo para la detección de este patógeno mediante PCR a tiempo real con sonda TaqMan idóneo para el análisis de diferentes tejidos vegetales como son hojas, raíces y semillas. El protocolo diseñado resultó muy específico y presentaba una sensibilidad del orden de 10² veces más que la PCR convencional. Este protocolo se empleó para el análisis de dos lotes de semillas comerciales de zanahoria que fueron elegidos por detectar un número considerable de plantas con *S. citri* en parcelas sembradas con estas semillas en la campaña anterior. Los análisis a semilla entera revelaron que ambos lotes presentaban una tasa de contaminación del 1 y el 2%. Para verificar la posible transmisión por semilla del patógeno, se sembraron 300 semillas de cada lote y las plántulas emergidas se analizaron a los 240 días tras la siembra, obteniéndose una tasa de transmisión del 30,1 y el 37,6% de *S. citri* en cada lote. A la vista de los resultados obtenidos, el riesgo de se produzca transmisión de *S.citri* por semilla, requiere del control de la sanidad de los lotes de semilla comerciales de zanahoria para evitar la dispersión del patógeno.

***Phytophthora cinnamomi*, LA GRAN AMENAZA DE LA FLORA NATIVA CALIFORNIANA**

Serrano Moral, M.S.^{1,2}, Garbelotto, M.²

¹ Departamento de Agronomía (Patología Agroforestal), Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Ctra. 396, 14071 Córdoba, España. al2semom@uco.es

² Department of Environmental Science, Policy and Management, University of California, Berkeley, 54 Mulford Hall, 94720, Berkeley, CA, Estados Unidos.

California es una de las zonas de mayor riqueza florística endémica de Estados Unidos, sin embargo su biodiversidad está amenazada por *Phytophthora cinnamomi*. Diferentes eventos de introducción del patógeno han resultado en una alta variabilidad genética entre los aislados californianos, diferenciándose cinco clados distintos. Pero, ¿qué repercusión tiene esa variabilidad genética en la virulencia de *P. cinnamomi* en la flora nativa? Para determinarlo, se infectaron plantones de cuatro especies endémicas susceptibles (*Arbutus menziessi*, *Umbellularia californica*, *Pseudotsuga menziessi* y *Arctostaphylos viscida* ssp. *viscida*) de 1 año de edad con 10 aislados distintos de *P. cinnamomi* (2 por clado). Se prepararon 10 plantas (repeticiones) por aislado y especie vegetal, más otras 10 plantas sin infectar por especie, como testigos. Todas las plantas se mantuvieron en invernadero con encharcamiento del sustrato 2 días por semana. Al término del ensayo todas las plantas inoculadas presentaban síntomas de la enfermedad, amarillez, marchitez y defoliación de la parte aérea, lo cual ocurrió a las 12, 10, 10 y 4 semanas para *U. californica*, *Ar. menziessi*, *P. menziessi* y *A. viscida*, respectivamente. Además, todas las plantas inoculadas mostraron una severidad de síntomas radicales significativamente mayor que sus respectivos testigos, no habiendo diferencias entre aislados para *Ar. menziessi*, *P. menziessi* y *A. viscida*. Sin embargo, los síntomas radicales obtenidos para *U. californica* permitieron dividir a los aislados en tres grupos: muy virulentos (P2170, mc12 y mc08), virulentos (P3662, P2183, mc09, P6379, P 2301 y mc33) y moderadamente virulentos (mc14). En conclusión, *P. cinnamomi* muestra variabilidad patogénica a nivel de aislado, aunque no a nivel de clado, salvo cuando los huéspedes son muy susceptibles. Estos resultados ponen de manifiesto la amenaza que representa *P. cinnamomi* para la supervivencia de las especies nativas muy susceptibles, especialmente *Ar. viscida*, *A. menziessi* y *P. menziessi*.

PRESENCIA DE MICOVIRUS EN HONGOS ASOCIADOS A AGUACATE

Arjona-Girona, I.¹, Velasco, L.², Ariza, M.T.², Cretazzo, E.², y López-Herrera, C.J.¹

¹Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

² IFAPA Centro de Churriana. Cortijo de la Cruz, 29140 Churriana, Málaga. E-mail: leonardo.velasco@juntadeandalucia.es

Rosellinia necatrix es uno de los principales hongos patógenos del aguacate y entre las diversas estrategias encaminadas a su control hemos investigado la presencia de especies virales que pudieran alterar la patogenicidad del hongo. Para ello realizamos una prospección de aislados de *Rosellinia* para investigar la presencia de dsRNAs. Posteriormente determinamos que los hongos de los que procedían los dsRNAs, identificados preliminarmente como *R. necatrix*, en realidad son la especie próxima *Entoleuca* sp., no descrita hasta ahora en aguacate. A partir de estos dsRNA de *Entoleuca*, asociados a la rizosfera de árboles de aguacate y con cierta acción de biocontrol sobre *Rosellinia necatrix* -agente causal de la podredumbre blanca de este cultivo-, hemos identificado tres especies de micovirus no descritas hasta la fecha. Se trata de un miembro de la familia *Hypoviridae* (ver comunicación adicional), otro de la familia *Megabirnaviridae* y un tercero perteneciente de la familia *Partitiviridae*. Hemos diseñado cebadores específicos para la detección por RT-PCR de estos micovirus. Además, se ha iniciado una colección de aislados de hongos del género *Entoleuca* obtenidos de raíces de aguacate para investigar la presencia de estos y otros micovirus. De entre 19 aislados de *Entoleuca* hemos detectado el hypovirus en el 74% de los mismos, así como el Megabirnavirus, que muestra la misma incidencia. En cuanto al partitivirus se encuentra en un 95% de los aislados. En el caso del hypovirus la identidad nucleotídica entre aislados es del 89.4% mientras que para el megabirnavirus es del 92%. En el caso del partitivirus arroja una identidad nucleotídica del 100%. Por tanto estos micovirus son muy abundantes en los hongos presentes en los cultivos de aguacate y han superado aparentemente la barrera interespecies.

INFLUENCIA DE LA PODA EN LA DISEMINACIÓN DE *Calosphaeria pulchella*, AGENTE CAUSAL DEL CHANCRO DEL CEREZO

Berbegal, M.¹, Vidal, A.², Armengol, J.¹

¹Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera S/N, 46022 – Valencia. mobermar@etsia.upv.es

²Cooperativa “Agrícola Villena”, Carretera del Puerto S/N, 03400-Villena, Alicante.

La enfermedad denominada “*Calosphaeria canker*”, causada por el hongo *Calosphaeria pulchella*, produce daños severos en plantaciones de cerezos en la provincia de Alicante: chancros y muerte de ramas. Su infección se produce preferentemente por heridas de poda. Se desconocen aspectos relevantes del manejo de la enfermedad, como la posible diseminación del patógeno mediante tijeras de poda y la influencia de las podas de verano e invierno en la infección. Se presentan ensayos realizados en dos parcelas de la localidad de Villena en las que se comparó la incidencia de la infección con tres tipos de poda, tanto en verano como en invierno: 1/ Usando tijeras desinfectadas con lejía; 2/ Usando tijeras con las que previamente se podaron ramas afectadas por la enfermedad; y 3/ Usando tijeras desinfectadas e inoculando posteriormente el corte de poda con *C. pulchella*. En cada parcela, para cada época y tipo de poda, se seleccionaron 10 árboles y 20 ramas sanas (2 por árbol). En todos los casos, después del corte de poda, éste se selló para impedir la infección natural de las heridas. Seis meses después de la poda se evaluó el porcentaje de reaslamiento del patógeno. En ambas parcelas, respecto a la comparación entre tipos de poda, el porcentaje significativamente mayor de ramas infectadas con *C. pulchella* correspondió a la inoculación artificial (80-90%) y el menor a la poda realizada con tijeras desinfectadas (10%), mientras que en la poda con tijeras con las que previamente se podaron ramas afectadas por la enfermedad éste fue de aproximadamente un 40-50%. No se observaron diferencias significativas en la infección entre las podas de invierno y de verano. Estos resultados confirman la importancia de la protección de las heridas de poda con fungicidas y de la limpieza regular de las tijeras de poda, para evitar la diseminación del patógeno.

Financiado por la Cooperativa “Agrícola Villena”.

ESTUDIO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN RAÍCES DE AGUACATE

Arjona-Girona, I.¹, Pereira-Caro, G.², Moreno-Rojas, J.M.², Pradas, I.² y López-Herrera, C.J.¹

¹ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

² Área de Tecnología, Poscosecha e Industria Agroalimentaria. IFAPA Alameda del Obispo. Avda. Menéndez Pidal s/n, Apartado 14004, Córdoba.

Se estudió previamente el contenido total de taninos y fenoles de tres tipos de árboles de aguacate (del cv. Topa-Topa, altamente susceptible a *R. necatrix*; árboles seleccionados como semi-tolerantes al patógeno, BG41, BG42 y BG83 y “árboles escape” 106, 107, 110, 112, 114, 115, 117 y 118) para relacionar la presencia de estos compuestos fenólicos con la tolerancia natural de estas plantas a la infección por *Rosellinia necatrix* agente causal de la podredumbre blanca del aguacate. Los resultados no mostraron grandes diferencias en la síntesis de fenoles y taninos entre los tres tipos de árboles.

Posteriormente para estudiar la inducción de estos compuestos en plantas infectadas por el patógeno, se inocularon árboles altamente susceptibles del cv. Topa-Topa y semi-tolerantes, con un aislado patogénico de *R. necatrix* y se determinó, mediante extracción y cuantificación, la presencia de compuestos fenólicos en sus raíces. En los árboles susceptibles a la síntesis de estos compuestos descendió bruscamente tras la infección por *R. necatrix* con respecto a sus plantas control no inoculadas con el patógeno. Sin embargo, aunque en plantas semi-tolerantes inoculadas también hubo un descenso en la síntesis de compuestos fenólicos, esta disminución no fue tan brusca como en el caso de árboles susceptibles.

La identificación de los principales compuestos fenólicos generados por raíces de aguacate, mediante cromatografía líquida de alta presión, determinó la catequina, epicatequina, dímeros y trímeros de epicatequina como los principales compuestos fenólicos generados. Siendo epicatequina el compuesto producido en mayor proporción. Parece que los compuestos fenólicos, como la epicatequina, podrían estar involucrados en la defensa de las plantas de aguacate contra *R. necatrix*, aunque la distinta resistencia a la enfermedad podría venir dada no por la mayor síntesis basal de estos compuestos, sino más bien por una menor disminución de su síntesis en plantas tolerantes en presencia del patógeno.

DETECCIÓN DE HONGOS DE LA FAMILIA Botryosphaeriaceae EN PLANTAS ORNAMENTALES DE PARQUES Y JARDINES DE GALICIA

Pintos-Varela, C., Redondo-Fernández, V., Rial-Martínez, C., Aguín-Casal, O., Costas-Imbernón, D. y Mansilla-Vázquez, J.P.

Estación Fitopatológica Areeiro, Deputación Pontevedra. Subida á Carballeira s/n. 36153. Pontevedra, España. cristina.pintos@depo.es

Los hongos de la familia Botryosphaeriaceae son conocidos patógenos que provocan daños en un amplio rango de huéspedes, tanto forestales, frutales como ornamentales. En 2010, durante la realización de un muestreo destinado a la detección de *Phytophthora ramorum* en parques y jardines de Galicia aislamos, además de especies de *Phytophthora*, dos especies de la familia Botryosphaeriaceae: *Neofusicoccum parvum* y *N. luteum*, causantes de necrosis foliares y canchales en ramas y ramillos en Rhododendro, tratándose de la primera detección registrada en España de estos patógenos sobre esta ornamental. Durante los años 2011-2016 continuamos los muestreos en los parques y jardines de Galicia analizándose un total de 507 muestras de plantas ornamentales sintomáticas, identificándose especies de la familia Botryosphaeriaceae en un 13,8%. La identificación se realizó mediante técnicas morfológicas, culturales y moleculares. El análisis molecular de los aislados en cultivo se llevó a cabo por amplificación, secuenciación y análisis filogenético de la región ITS del ADN ribosomal y de un fragmento del gen del factor de elongación 1-alfa (EF1-a). Se registraron un total de 7 especies (*Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia mutila*, *D. seriata*, *Dothiorella* spp., *N. australe*, *N. luteum* y *N. parvum*) en múltiples huéspedes ornamentales: adelfa, aucuba, aligustre, azalea, camelia, evónimo, laurel, madroño, magnolio, mahonia, piracanta, pitosporo, rododendro y viburno. Las especies de Botryosphaeriaceae más abundantes fueron *N. parvum*, que apareció en un 37%, seguida de *N. luteum* y *D. mutila*, en un 26% y 14% respectivamente. Aunque los síntomas asociados a estas enfermedades, como clorosis, necrosis foliares y/o decaimiento general, no suelen ser letales, sí provocan una pérdida del valor ornamental de las plantas.

EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS PARA LA PROTECCIÓN DE HERIDAS DE PODA FRENTE A LA INFECCIÓN POR ESPECIES DE Botryosphaeriaceae EN ALMENDRO.

Olmo, D.¹, Fabricius, K. M.², Serra-Martínez V.³, Gramaje D.⁴, Armengol J.³

¹ Laboratorio de Sanidad Vegetal, Serveis de Millora Agrària i Pesquera-Conselleria de Medi Ambient, Agricultura i Pesca, C/Eusebi Estada 145, 07009 Palma de Mallorca, Islas Baleares, España. dolmo@semilla-caib.es

² Universidad de las Islas Baleares. Ctra. de Valldemosa, km. 7,5, 07122 Palma de Mallorca, Islas Baleares, España.

³ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia.

⁴ Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Consejo Superior de Investigaciones Científicas - Universidad de la Rioja - Gobierno de La Rioja, Ctra. LO-20 Salida 13, Finca La Grajera, 26071 Logroño.

Desde el año 2008, se viene observando la presencia de síntomas de decaimiento de ramas y muerte de almendros en parcelas de diferentes zonas de la isla de Mallorca, que están causadas por varias especies de hongos que afectan a la madera. Entre ellos destacan, por su elevada frecuencia, los pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae. No existen trabajos previos que aborden el control de este tipo de hongos en almendro, cuyas infecciones se producen preferentemente a través de las heridas de poda. Por tanto, en este trabajo se presenta la evaluación de diez materias activas fungicidas (boscalida, captan, ciproconazol, folpet, mancozeb, metil tiofanato, oxiclورو de cobre, piraclostrobin, tebuconazol, y tiram) para la protección de heridas de poda frente a la infección por cuatro especies de Botryosphaeriaceae (*Diplodia seriata*, *Neofusicoccum luteum*, *N. mediterraneum* y *N. parvum*) que afectan al almendro. El estudio se llevó a cabo en dos fases; primero se determinó *in vitro* el efecto de los fungicidas sobre el crecimiento micelial de los hongos y, posteriormente, se evaluaron en condiciones controladas en invernadero los fungicidas más efectivos *in vitro*, aplicándolos en heridas de poda en almendros de tres años de edad, inmediatamente tras el corte. Los cortes tratados se inocularon con una suspensión de fragmentos de micelio de cada una de las especies estudiadas a los uno y siete días, después del corte y aplicación de los fungicidas. Cinco meses tras la inoculación se midió la longitud de la lesión interna producida en la madera de los almendros y se calculó el porcentaje de reislamiento. Los fungicidas tebuconazol y piraclostrobin, seguidos de ciproconazol y metil tiofanato, se mostraron como los más efectivos en la evaluación *in vitro*, mientras que el fungicida más efectivo para la protección de heridas de poda frente a la infección por hongos de la familia Botryosphaeriaceae fue el metil tiofanato.

EFFECTO *IN VITRO* E *IN VIVO* DE EPICATEQUINA SOBRE *Rosellinia necatrix*

Arjona-Girona, I.¹, Pereira-Caro, G.², Moreno-Rojas, J.M.² y López-Herrera, C.J.¹

¹ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

² Área de Tecnología, Poscosecha e Industria Agroalimentaria. IFAPA Alameda del Obispo. Avda. Menéndez Pidal s/n, Apartado 14004, Córdoba.

Se utilizó epicatequina como compuesto modelo para evaluar el efecto de compuestos fenólicos generados por raíces de aguacate sobre *R. necatrix* tanto *in vitro* como *in vivo*, por ser el compuesto producido en mayor cantidad (ver comunicación adicional).

El efecto *in vitro* de epicatequina sobre el patógeno se estudió en placas de PDA, depositándose sobre el micelio del hongo 10 µL de solución del compuesto, siendo la dosis final de 0, 50, 100, 500 y 1.000 µg. Se midieron los diámetros de crecimiento mayor y menor de la colonia del hongo diariamente hasta que las placas control cubrieron completamente la placa y se calculó el área bajo la curva del crecimiento micelial estandarizado. Se observó que a pesar de que dosis intermedias y altas del compuesto activan el crecimiento del hongo, el aspecto de su colonia se modifica, tiñendo el medio de amarillo y no presentando micelio aéreo como en el control sin tratar.

El efecto *in vivo* de este compuesto se evaluó mediante el estudio de la patogenicidad de los aislados de *R. necatrix* tratados previamente con distintas dosis de epicatequina (0, 50, 100, 500 y 1.000 µg) sobre plantas de aguacate del cv. Topa-Topa de 9 meses de edad. Una vez inoculadas las plantas se realizaron dos lecturas de síntomas semanales hasta que todas las plantas control positivo murieron, calculándose el área bajo la curva del progreso epidémico de la enfermedad. Se observó que las dosis altas de 500 y 1.000 µg indujeron una disminución de la patogenicidad del hongo, con respecto al control sin tratar.

Se puede concluir que los compuestos fenólicos, como la epicatequina, podrían estar involucrados en la defensa de las plantas de aguacate contra *R. necatrix*.

VALIDACIÓN Y CALIBRACIÓN DE UN MODELO EPIDEMIOLÓGICO PARA PREDECIR EL MOTEADO DEL NÍSPERO CAUSADO POR *Fusicladium eriobotryae* EN SICILIA

González-Domínguez, E.¹, Rossi, V.¹, Farina, V.², Gianguzzi, G.², Berbegal, M.³, Armengol, J.³

¹ Department of Sustainable Crop Production - DI.PRO.VE.S., Facoltà di Scienze agrarie, alimentari e ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense, 84, 29122 Piacenza, Italia

² Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, Edif. 4-H, 90128 Palermo, Italia.

³ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. jarmengo@eaf.upv.es

El moteado del níspero causado por *Fusicladium eriobotryae* es la principal enfermedad de este cultivo en la cuenca mediterránea, afectando principalmente a hojas y frutos. Recientemente, la biología del patógeno y la epidemiología de la enfermedad han sido estudiadas en profundidad, y los resultados obtenidos han permitido el desarrollo de un modelo epidemiológico “EriScab”, capaz de predecir la infección de frutos por conidios de *F. eriobotryae*. Este modelo, que utiliza como inputs variables meteorológicas, ha sido validado en la principal zona de cultivo de la provincia de Alicante, Callosa d’En Sarrià, sobre frutos de la variedad Algerie. El objetivo de este trabajo es: (i) evaluar la robustez del modelo, es decir, su capacidad de predecir el desarrollo de la enfermedad en condiciones ambientales distintas a las utilizadas para su elaboración y (ii) calibrar el modelo para su utilización con variedades de níspero con una sensibilidad al moteado diferente de Algerie. Para ello, durante tres años consecutivos (2014-2016) se realizó el seguimiento del moteado en una parcela experimental de níspero plantada con los cultivares Algerie, Peluches y Sanfilippara, situada en Palermo (Sicilia, Italia), y en la que no se realizaron tratamientos fungicidas. Para cada cultivar se seleccionaron 10 árboles, en cada uno de los cuales se etiquetaron 20 frutos (200 frutos en total), evaluándose la presencia de moteado mediante muestreos periódicos. El avance de la enfermedad observada en campo se comparará con aquella predicha por el modelo, mediante la bondad de ajuste de la regresión lineal de los datos observados frente a los predichos. Estos resultados fueron utilizados para la calibración del modelo en aquellas variedades con una sensibilidad distinta al moteado.

Financiado por el proyecto RTA2013-00004-C03-03 (INIA), y fondos FEDER.

PRESENCIA DE MICOVIRUS EN AISLADOS DE *Rosellinia necatrix* Y *Phytophthora cinnamomi*

Arjona-López, J.M.¹, Arjona-Girona, I.¹, Ariza, M. T.², Cretazzo, E.², Velasco, L.² y López-Herrera, C.J.¹

¹ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

² IFAPA Centro de Churriana, Cortijo de la Cruz s/n, 29140 Churriana, Málaga. E-mail: leonardo.velasco@juntadeandalucia.es

La Podredumbre blanca de raíz y podredumbre de raíz en aguacate son enfermedades causadas por los hongos patógenos de suelo *Rosellinia necatrix* y *Phytophthora cinnamomi*, respectivamente, causando graves problemas en plantaciones de la costa sur de España. Una posible solución a estas graves enfermedades es el virocontrol con aislados de baja virulencia que estén infectados por micovirus como responsables del fenómeno de hipovirulencia. Por ello para relacionar la presencia de micovirus con la baja virulencia de los aislados de estos patógenos, se ha llevado a cabo prospecciones en diferentes fincas comerciales afectadas y con síntomas graves de ambas enfermedades. Se tomaron muestras de raíces de los árboles, se aislaron los hongos en medio de cultivo y se identificaron. A estos aislados se le realizaron extracciones de dsRNA para comprobar la presencia de micovirus en 28 aislados de *R. necatrix* y 5 aislados de *P. cinnamomi* y se realizó una RT-PCR con primers específicos de tres micovirus (Hipovirus, Megabirnavirus y Partitivirus) (ver comunicación adicional). Los resultados obtenidos indicaron la presencia de micovirus en casi todos los aislados de *R. necatrix*, 35% de Hipovirus, 28% de Megabirnavirus y 92% de Partitivirus. En cuanto a los aislados de *P. cinnamomi*, hubo presencia de Partitivirus en el 60% (tres aislados) e Hipovirus en un aislado. Por lo tanto se confirma la presencia de dsRNA en aislados patogénicos de estos dos hongos. Actualmente se están realizando los tests de patogenicidad en plantas de lupino y aguacate para relacionar el nivel de virulencia de los aislados con la presencia de micovirus en ellos.

EFEECTO DE LA TEMPERATURA Y EL PERÍODO DE HUMECTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO DE INFECCIONES CAUSADAS POR *Stemphyllium vesicarium* EN PLANTAS DE AJO

Berbegal, M.¹, González-Domínguez, E.², Armengol, J.¹

¹ Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia. mobermar@etsia.upv.es

² Department of Sustainable Crop Production - DI.PRO.VE.S., Facoltà di Scienze agrarie, alimentari e ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense, 84, 29122 Piacenza, Italia.

La incidencia de la enfermedad denominada “Blanquilla” causada por *Stemphyllium vesicarium* (teleomorfo *Pleospora allii*) en las plantaciones de ajo en Castilla la Mancha es variable y dependiente de las condiciones ambientales anuales. En este contexto, surge el interés por el desarrollo de un modelo de predicción de los momentos con riesgos de infección, como apoyo a las estrategias de manejo de esta enfermedad. Se presentan dos experimentos realizados para conocer el efecto de la temperatura y la duración de los periodos de humectación sobre el desarrollo de infecciones en plantas de ajo inoculadas con conidios de *S. vesicarium* o ascosporas de *P. allii*. El material vegetal se inoculó: (i) pulverizando una suspensión de conidios (5×10^5 conidios/ml) sobre plantas de ajo de 2 meses de edad y, (ii) añadiendo gotas de 20 μ l de una suspensión de ascosporas a fragmentos de hojas dispuestos en cámara húmeda. Una vez inoculadas las plantas, éstas se embolsaron y junto con las cámaras se incubaron en un fitotrón a seis temperaturas (5, 10, 15, 20, 25 y 30°C) y siete periodos de humectación (6, 12, 18, 24, 36, 48 y 72 horas), tras lo cual se mantuvieron en una cámara de incubación en condiciones óptimas (20°C, 60% HR, 12 h de luz/12 h de oscuridad) durante 7 días. En el caso de los conidios, las infecciones se desarrollaron entre 15 y 30°C, con el mayor nivel de severidad a 20°C. En el caso de las ascosporas, las infecciones se desarrollaron entre 10 y 25°C, con los mayores niveles de severidad a 15 y 20°C. En ambos casos, el máximo porcentaje de superficie foliar afectada se observó a las 48 horas. Los resultados obtenidos se utilizarán para elaborar un modelo epidemiológico de la enfermedad causada por *S. vesicarium* en ajo.

Proyecto financiado por la Cátedra Bayer CropScience-UPV

ASOCIACIÓN ENDOFÍTICA DE *FUSARIUM CIRCINATUM* Y PLANTAS DEL SUSTRATO HERBÁCEO DE PINARES ENFERMOS DEL PAÍS VASCO

Hernández, L.¹, Campos, J.A.², Renobales, G.³, García, I.³, Iturritxa, E.³, Elvira Recuenco, M.¹, Raposo, R.^{1,4}

¹ INIA-CIFOR, Ctra. Coruña km 7,5, 28040 Madrid

² Universidad del País Vasco UPV/EHU, Apdo.644, 48080 Bilbao

³ NEIKER, Granja Modelo – Arkaute, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz

⁴ Instituto Forestal para la Gestión Forestal Sostenible, INIA- Universidad de Valladolid, Avda. Madrid 44, 34004 Palencia

Fusarium circinatum Nirenberg & O'Donnell, agente causante de la enfermedad del chancro resinoso del pino, afecta a poblaciones del norte de la Península Ibérica, donde *Pinus radiata*, de alta susceptibilidad al patógeno, es frecuente. Provoca la aparición de chancros, defoliación, marchitez y damping-off, hasta llegar en ocasiones a causar la muerte de la planta, lo que hace a la madera inservible. Recientemente se ha detectado en Sudáfrica y California la presencia de *Fusarium circinatum* como endófito en plantas pertenecientes a la familia Poaceae, sin causar daños aparentes. Es por esto que estas plantas pueden servir como fuente de inóculo y dispersar la enfermedad a nuevas áreas de pinares no infectados. El objetivo de este trabajo es estudiar la presencia de *Fusarium circinatum* como endófito en plantas de distintas especies que crecen bajo árboles sintomáticos de *Pinus radiata*, así como confirmar la patogenicidad de estos aislados en pino. Los resultados mostraron la habilidad de *Fusarium circinatum* de vivir como endófito en plantas de *Agrostis capillaris* y *Pseudarrhenatherum longifolium* en el 20% y 18% de las plantas muestreadas, respectivamente. No sólo se detectó el hongo en especies pertenecientes a la familia de las gramíneas, sino también en *Hedera hibernica* que crecía sobre la corteza de árboles sintomáticos y en la parte aérea de plantas de *Rubus ulmifolius* y *Teucrium scorodonia*. Además, todos los aislados resultaron ser patogénicos en pino. Estos resultados evidencian el riesgo de dispersión de la enfermedad a través de especies que sirvan como reservorio de inóculo y contribuyen al entendimiento de la epidemiología de la enfermedad.

**IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DE LA FAMILIA
Botryosphaeriaceae EN EUCALIPTOS DE GALICIA**

Pintos-Varela, C. Redondo-Fernández, V., Rial-Martínez, C., Aguín-Casal, O., Costas-Imbernón, D. y Mansilla-Vázquez, P.

Estación Fitopatológica Areiro, Deputación Pontevedra. Subida á Carballeira s/n.
36153. Pontevedra, España. cristina.pintos@depo.es

El género *Eucalyptus* incluye varias especies de importante valor en el sector forestal. A pesar de la importancia económica de estas especies arbóreas no hay muchos estudios sobre los patógenos fúngicos que afectan a este huésped. Los hongos de la familia *Botryosphaeriaceae* son hongos oportunistas que pueden permanecer en estado latente durante largos periodos de tiempo pero a su vez bien adaptados a vivir como parásitos cuando las condiciones le son favorables. Los síntomas que ocasionan incluyen, secado del brote terminal, lesiones necróticas en la inserción de las yemas a las ramas, muerte de yemas, brotes y ramillos, manchas necróticas en las hojas, lesiones rojizas oscuras con resquebrajamiento de la corteza, así como canchros en los tallos y ramas, pudiendo a su vez producirse en algunos casos, exudaciones de una sustancia negra denominada *Kino* en los puntos de infección. Tanto de hojas como de muestras leñosas sintomáticas se pueden aislar en medio de cultivo especies de esta familia de hongos. La identificación se realizó por técnicas morfológicas, culturales y moleculares mediante la amplificación y secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal y de un fragmento del gen del factor de elongación 1-alpha (EF1-a). Se han registrado hasta la fecha un total de 5 especies distintas: *Botryosphaeria dothidea*, *Diplodia mutila*, *Neofusicoccum eucalyptorum*, *N. mediterraneum* y *N. parvum*.

DETECCIÓN DE ESPECIES DE *Phytophthora* EN PARQUES Y JARDINES DE GALICIA

Pintos-Varela, C., Rial-Martínez, C., Redondo-Fernández, V., Agúin-Casal, O. y Mansilla-Vázquez, J.P.

Estación Fitopatológica Areeiro, Deputación de Pontevedra. Subida á Carballeira s/n. 36153. Pontevedra, España. cristina.pintos@depo.es

P. ramorum se encuentra en la lista A2 de patógenos de cuarentena de la EPPO. Por este motivo, y desde su primera detección en el año 2003 en camelia y viburno en la Estación Fitopatológica Areeiro realizamos una prospección anual en huéspedes susceptibles en parques y jardines de Galicia. En los últimos años, se ha constatado la presencia de otras especies de *Phytophthora*, con menor importancia que *P. ramorum*, causantes de manchas foliares, necrosis en brotes y defoliaciones en diferentes huéspedes ornamentales. Los síntomas ocasionados por estos patógenos provocan pérdidas importantes del valor ornamental de estos cultivos. Se identificaron cuatro especies de *Phytophthora* entre las que cabe señalar la primera detección en España de *P. ilicis* en *Ilex aquifolium*. También se identificó *P. hibernalis*, *P. syringae* y *P. pseudosyringae* en *Rhododendron* y *P. syringae* en *Photinia*. La identificación se realizó mediante técnicas morfológicas, fisiológicas y moleculares. La identificación molecular de los aislados se llevó a cabo mediante amplificación, secuenciación y análisis filogenético de las regiones de ADN ribosomal (ADNr) que comprenden el primer espaciador de transcripción interno (ITS1), el gen 5.8S (que codifica el ARN ribosómico) y el segundo espaciador de transcripción interno (ITS2), y la región central del gen del factor de elongación 1-alfa (*EF-1 α*).

COMPORTAMIENTO ALIMENTICIO DE PULGONES ASOCIADO A LA TRANSMISIÓN DE VIRUS SEMIPERSISTENTES

Jiménez, J., Fereres, A. & Moreno, A.

¹Instituto de Ciencias Agrarias, Consejo Superior de Investigaciones Científicas. C/Serrano 115 dpdo., 28006 Madrid, España. E-mail: amoreno@ica.csic.es

Para profundizar en el conocimiento sobre los mecanismos de transmisión de virus semipersistentes se ha estudiado el comportamiento alimenticio de *Myzus persicae* Sulzer. asociado a la transmisión de *Beet yellows virus* (BYV, *Closterovirus*) en remolacha azucarera (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *altissima*). Mediante la técnica de Gráficos de Penetración Eléctrica (EPG) se ha estudiado el comportamiento alimenticio de *M. persicae* asociado a los procesos de adquisición e inoculación viral. Se establecieron diferentes tratamientos asociados a los patrones de ondas EPG correlacionadas con las pautas de alimentación del pulgón: recorrido de los estiletes por el espacio intercelular (C), al menos una inserción intracelular (pd), una inserción celular en los tejidos floemáticos (pd tipo-II), salivación en floema (E1), interfase entre salivación e ingestión en floema (E1 + Int.) e ingestión en floema (E2). Para el estudio del proceso de adquisición, se monitorizó mediante EPGs el comportamiento de pulgones no virulíferos sobre plantas fuente durante la realización de los distintos tratamientos. Posteriormente, los pulgones fueron confinados durante un periodo de inoculación de 24h sobre plantas receptoras sanas para evaluar la tasa de transmisión. En los ensayos de inoculación, se emplearon pulgones virulíferos, monitorizando los tratamientos correspondientes sobre plantas receptoras sanas en las que se evaluó la tasa de transmisión. Tanto la adquisición como la inoculación de BYV están asociadas a la alimentación del pulgón en el floema, no obteniendo transmisión cuando el pulgón realiza pruebas en los tejidos no floemáticos. La tasa de adquisición óptima de BYV se obtuvo cuando el vector se mantuvo más de 4h ingiriendo en floema. La inoculación, sin embargo, parece que puede producirse durante inserciones intracelulares previas a la fase asociada a salivación continua en los vasos cribosos del floema, E1. Se discutirán los mecanismos involucrados en los procesos de adquisición e inoculación de virus semipersistentes por pulgones.

NUEVAS FORMULACIONES PARA *Candida sake* CPA-1 FORMADORAS DE RECUBRIMIENTO BIODEGRADABLE EN LA FRUTA PARA MEJORAR SU SUPERVIVENCIA Y EFECTIVIDAD BAJO CONDICIONES DE ESTRÉS

Carbó, A., Torres, R., Usall, J., Solsona, C., Costa, E., Teixidó, N.

IRTA, XaRTA-Postcollita, Edifici Fruitcentre, Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari de Lleida, 25003 Lleida. anna.carbo@irta.cat

El agente de biocontrol *Candida sake* CPA-1 ha demostrado ser efectivo en el control de podredumbres causadas por patógenos como *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* o *Rhizopus nigricans* en fruta. Sin embargo, para su aplicación en campo era necesario combinarlo con un film alimentario que mejoraba su supervivencia en condiciones de estrés, y su adherencia y distribución en la fruta. El objetivo del presente estudio fue la obtención de una formulación mejor y más competitiva en condiciones de campo para poder ser aplicada independientemente de cualquier producto. Con esta finalidad, en este estudio se optimizó el proceso de secado de CPA-1 mediante lecho fluido-atomizador juntamente con componentes formadores de recubrimiento biodegradable, suponiendo un enfoque totalmente novedoso, tanto por el sistema de secado, como por la obtención de un producto final seco capaz de formar recubrimiento en la superficie de la fruta. Durante la optimización del secado, se probaron varias sustancias como soporte y aglomerante y se seleccionó la temperatura óptima de secado. También se evaluó la adición de diversas sustancias protectoras con el fin de mejorar la supervivencia de CPA-1 durante la deshidratación. Una vez optimizada la formulación se estudió la vida útil del producto y se comprobó su efectividad frente a *B. cinerea* y su supervivencia en condiciones de estrés ambiental en uva. La temperatura óptima de secado fue 55°C y se obtuvieron dos formulaciones capaces de formar recubrimiento en la superficie de aplicación. La primera se formuló utilizando una combinación de almidón de patata soluble y pregelatinizado, respectivamente; mientras que para la segunda se utilizó fundamentalmente maltodextrina y se le añadió leche y sacarosa como protectores. En ambas formulaciones *C. sake* mantuvo su efectividad y sobrevivió mejor en condiciones de estrés ambiental de temperatura y humedad.

Esta investigación está financiada por un proyecto nacional RTA2012-00067-C02-01 y por una beca de doctorado INIA (A. Carbó). Agradecimientos al INIA, al Fondo Social Europeo y al FEDER.

EFFECT OF TEMPERATURE ON THE ACCUMULATION OF *Gremmeniella abietina* RNA VIRUS 6 AND ITS HOST, THE FUNGAL PATHOGEN *Gremmeniella abietina*

Leticia Botella¹, Miloň Dvořák¹, Eeva J. Vainio², Libor Jankovsky¹, Paolo Capretti^{3,4}, Jarkko Hantula², Julio J. Diez⁵, Nicola Luchi⁴

¹ Department of Forest Protection and Wildlife Management, Faculty of Forestry and Wood Technology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 61300 Brno, Czech Republic. leticia.sanchez@mendelu.cz

² Finnish Forest Research Institute, Vantaa Research Unit, PO Box 18, 01301 Vantaa, Finland.

³ Institute for Sustainable Plant Protection - National Research Council (IPSP-CNR) - Via Madonna del Piano, 10, 50019 Sesto Fiorentino, Firenze, Italy

⁴ Department of Agrifood Production and Environmental Sciences, University of Florence (DISPAA). Piazzale delle Cascine, 28, I-50144, Firenze, Italy

⁵ Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid – INIA, Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, Spain

The occurrence of the novel mycovirus species *Gremmeniella abietina* RNA virus 6 (GaRV6) was studied within the European race of *Gremmeniella abietina*. We examined 162 isolates originating from Canada, Czech Republic, Finland, Italy, Montenegro, Serbia, Spain, Switzerland, Turkey and the United States. According to direct specific reverse transcription (RT) PCR screening based on the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) sequence, the virus was only present in Spain, but when quantitative RT-PCR (RT-qPCR) was applied, it was also found at a very low concentration in three isolates from Canada, Italy and Finland. To gain insight into the three-way interaction among temperature, mycovirus, and *G. abietina*, we carried out an in vitro experiment with eight Spanish isolates (four hosting and four not hosting the virus) with four repetitions each. We assessed the virus expression (accumulation) based on the quantity of RdRp-encoding RNA by RT-qPCR and the *G. abietina* growth rate at 5, 15 and 20 °C. The occurrence of the virus had a relevant detrimental effect on *G. abietina* growth rate, which was also significantly influenced by the temperature. However, the temperature appeared not to plainly influence the virus accumulation and the virus accumulation did not have any effect on the growth rate of the infected *G. abietina* isolates. Altogether, these results suggest that the role of GaRV6 as a relevant factor with respect to the more thermophilic nature of the Spanish population of *G. abietina* may be ruled out.

MORPHOGENESIS AND VIRULENCE ARE REGULATED BY OVERLAPPED BUT DISTINCT MOLECULAR MECANISMS IN *Verticillium dahliae*

Sarmiento-Villamil, J.L.¹, Prieto, P.², Klosterman, S.J.³, García-Pedrajas, M.D.¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”- Universidad de Málaga - Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Estación Experimental “La Mayora”, 29750 Algarrobo-Costa, Málaga, Spain.

² Departamento de Mejora Genética, Instituto de Agricultura Sostenible, IAS-CSIC, Alameda del Obispo s/n. Apdo 4084, 14080 Córdoba, Spain.

³ United States Department of Agriculture-Agriculture Research Service, Salinas, California 93905, USA.

The soilborne pathogen *Verticillium dahliae* poses a threat to many important crops worldwide. *V. dahliae* produces highly durable structures, the microsclerotia, which germinate in the presence of root exudates from the host, producing hyphae that penetrate the root cortex. Upon reaching the xylem, a combination of sporulation and filamentous growth is thought to contribute to vascular colonization. A number of genes have been identified whose alteration affects both virulence and microsclerotium development. This led to postulate that these processes are inextricably linked and co-regulated. Two major signalling pathways, MAPK cascades and cAMP signalling, have been implicated in the regulation of morphogenesis and virulence in fungi. In this work, we functionally characterized three regulatory proteins which are potential downstream targets of these regulatory pathways, revealing that microsclerotium development and virulence can be fully uncoupled. Thus, deletion of the APSES transcription factor (TF) gene *vst1* abolished microsclerotium production and altered sporulation processes but did not diminish the ability of the fungus to colonize the host. By contrast, deletion of *vph1*, a putative homolog of the major target of MAPK signalling *ste12*, did not affect vegetative growth but rendered strains avirulent. Deletion of *vhb1*, encoding a protein similar to homeobox TFs involved in sporulation, greatly impacted sporulation but not microsclerotium development and also rendered strains avirulent. Confocal microscopy showed that $\Delta vph1$ could not penetrate the root cortex while $\Delta vhb1$ was impaired in its ability to proliferate in the xylem. Interestingly, a microarray analysis identified an important overlap in the genes under *Vst1* and *Vph1* regulation. We propose that different downstream targets allow the fungus to regulate particular aspects of morphogenesis and virulence through the same pathways. The specific role and putative connection with other components of the signalling pathways of each TF characterized will be discussed.

BIOCONTROL DE LA PODREDUMBRE DE RAÍZ Y CORONA DE PLANTAS DE FRESA MEDIANTE *Trichoderma* spp.

Arenas-Rojas, J.C., Melero- Vara, J.M. López Herrera, C.J.

¹ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

Recientemente se ha detectado a *Fusarium solani* como patógeno emergente produciendo la podredumbre de raíz y corona en el cultivo de fresa en España, disminuyendo su crecimiento y mermando la capacidad de desarrollo y producción.

Con el objetivo de reducir estos efectos, se ha realizado un estudio de biocontrol de la enfermedad con 34 aislados monoconídicos de *Trichoderma* spp. En primer lugar se realizaron cultivos duales en placas de Petri con PDA, enfrentando cada uno de los aislados de *Trichoderma* con cuatro aislados de *F. solani*, situando en cada placa un disco de micelio de cada uno de los microorganismos. Se observó aislados de *Trichoderma* que tenían un crecimiento sobre las colonias de *F. solani* y uno de ellos creó un halo de inhibición sobre el patógeno.

En segundo lugar se realizaron cultivos en celofán para comprobar la posible liberación de metabolitos de *Trichoderma* al medio de cultivo que pudieran tener efecto de biocontrol sobre el patógeno. Primeramente transferimos discos de micelio de *Trichoderma* en el medio PDA con celofán, que se incubaron en oscuridad a 25°C durante 3-5 días, tras los cuales se retiraba éste. A continuación se colocaron los discos de *F. solani* sobre el medio de cultivo y se midieron los crecimientos radiales diarios de las colonias del patógeno. En el 50% de los aislados de *Trichoderma* se lograron inhibiciones significativas de dicho crecimiento que oscilaron entre 20 y 35% respecto al testigo para los cuatro aislados ensayados.

Con estos resultados se han seleccionado aislados de *Trichoderma* potenciales agentes de biocontrol de la enfermedad, que se están constatando mediante bioensayos de inoculación artificial de los antagonistas en plantas de fresa de los cvs. Andana y Chandler inoculadas previamente con *F. solani*.

INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO EN LA EVOLUCIÓN DE LAS PODREDUMBRES DE PIMIENTO CALIFORNIA

Parra, M.A.¹, Aguilar, F.W.², Martínez, J.A.¹

¹Grupo Protección de Cultivos, Departamento de Producción Vegetal, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA), Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), 30203, Cartagena (Murcia). ma.parra@upct.es

²S.A.T. 9821 Grupo CFM, Balsapintada, (Murcia)

El pimiento California es una importante hortaliza cultivada en Murcia. Se destina a mercado interior y exportación, con un amplio mercado europeo. Tanto por la disparidad de destinos como por su uso, en fresco o procesado, suele requerir un período de almacenamiento antes de su consumo. El fruto es sensible a los daños por frío, esto implica que las condiciones térmicas y duración del almacenamiento son factores críticos para mantener la calidad y reducir sus podredumbres. Se ha estudiado la incidencia de las podredumbres del pimiento California almacenado a 5, 9 y 18°C con una humedad relativa ambiental cercana a la saturación y otra menor del 95%. Se han identificado y aislado los hongos que han causado podredumbres durante 90 días, tanto en el pedúnculo como en la pulpa. Adicionalmente se ha caracterizado el aspecto visual de la podredumbre como presencia o ausencia de micelio aéreo, aspecto visual de éste y sus características básicas: consistencia y color. Se ha detectado la incidencia de podredumbres ocasionadas por *Botrytis* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Stemphylium* sp. y *Fusarium* sp. La podredumbre gris ocasionada por *Botrytis cinerea* ha sido la más frecuente en todas las condiciones ensayadas, pero con un aspecto visual variable. A 5 y 9°C, se desarrolló como un micelio aéreo algodonoso, laxo y abundante, mientras que a 18°C, se presentó como un micelio grisáceo, algo compacto y menos algodonoso, debido a la proliferación de masas grisáceas de conidios. *Alternaria* sp., creció como micelio aterciopelado a 5 y 9°C, pero a 18°C, presentó un micelio aéreo más abundante y dotado de tonos blanquecinos. Las podredumbres por *Penicillium* sp. y *Fusarium* sp. fueron esporádicas y únicamente aparecieron tras períodos prolongados de almacenamiento, ocupando pequeñas extensiones sobre la piel.

ABIOPROTECT®: SOLUCIÓN QUE INTEGRA UN PRODUCTO Y UN SERVICIO PARA LA PROTECCIÓN CRUZADA DE CULTIVOS DE TOMATE FRENTE AL VIRUS DEL MOSAICO DEL PEPINO DULCE (PepMV)

Jesús Agüero¹, Julio M. García-Villalba¹, Álvaro Casado¹, Pedro Gómez², Antonio Méndez-Colmenero¹, Yolanda Hernando² y Miguel A. Aranda²

¹Abiopep S.L. Parque Científico de Murcia. Ctra. Madrid Km 388. Complejo de Espinardo - Edificio R, 2º. 30100 Murcia (España). URL : www.abiopep.com. E-mail: jaguero@abiopep.com

²Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)-CSIC, Apdo. correos 164, 30100 Espinardo, Murcia (España). E-mail: m.aranda@cebas.csic.es

El virus del mosaico del pepino dulce (*Pepino mosaic virus*, PepMV) está causando graves epidemias en cultivos de tomate en todo el mundo. En España, la mayor incidencia de la enfermedad causada por PepMV se da en las provincias de Murcia, Granada, Almería y en el Archipiélago Canario, en donde puede afectar al 100% de las plantas de un 60-70% de las parcelas de cultivo comercial de tomate, causando gravísimas pérdidas económicas. Esta es una situación de emergencia fitosanitaria que requiere medidas urgentes y eficaces para salvaguardar la producción de tomate para consumo en fresco en España. Abiopep, en colaboración con el grupo de Patología Vegetal del CEBAS-CSIC (Murcia), ha desarrollado AbioProtect®, una solución que integra un producto y un servicio para la protección cruzada de cultivos de tomate frente a PepMV. Abiopep ha llevado a cabo experimentos para determinar la eficacia de la protección conferida por AbioProtect® en diferentes variedades de tomate, así como para determinar posibles interacciones con insectos vectores de virosis y con factores de estrés abiótico. Los resultados indican que las pérdidas de producción inducidas por aislados agresivos pueden reducirse hasta un 65% mediante el uso de AbioProtect®. No se observa preferencia en pulgones ni mosca blanca por las plantas tratadas con AbioProtect® y, además, estas plantas tuvieron un crecimiento relativo mayor que las plantas sanas cuando estreses de salinidad y alta temperatura fueron aplicados conjuntamente.

PRIMERA DETECCIÓN DE *Pectobacterium wasabiae* EN ESPAÑA

Feria F.J.¹, Martín-Robles M.J.¹, Suárez M.B.² y Palomo J.L.¹

¹ Centro Regional de Diagnóstico, Junta de Castilla y León. Ctra. Aldealengua-Babilafuente Km. 5, 37340 Aldearrubia (Salamanca). palgomjo@jcyll.es

² Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG). CSIC/Universidad de Salamanca. C/ Zacarías González nº 2, 37007 Salamanca.

Pectobacterium es un género de bacterias Gram negativas perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, que causa podredumbres blandas en diferentes especies vegetales. Actualmente comprende seis especies: *P. atrosepticum*, *P. betavascolorum*, *P. cacticida*, *P. wasabiae*, *P. aroidearum* y *P. carotovorum*, incluyendo esta última las subespecies *actinidiae*, *brasiliensis*, *odoriferum* y *carotovorum*. Todas estas especies tienen la capacidad de macerar el tejido vegetal por la presencia de enzimas pectinolíticas, causando grandes pérdidas económicas en cultivos agrícolas en todo el mundo. En el cultivo de la patata ocasionan la podredumbre blanda del tubérculo y el pie negro o pudrición de la base del tallo, que en España se han asociado, hasta ahora, a *P. atrosepticum*, *P. chrysanthemi* y *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*.

Como consecuencia de las dificultades en la identificación bioquímica de las distintas cepas de *Pectobacterium* aisladas en el Centro Regional de Diagnóstico (Salamanca) a partir de muestras de patata con síntomas de podredumbre blanda y pie negro, se han implementado métodos moleculares basados en PCR convencional y qPCR para la identificación rápida y fiable de estos patógenos. Como parte de los ensayos realizados, se ha analizado una selección de cepas previamente identificadas como *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* en base a pruebas bioquímicas, aplicando un protocolo descrito por Kang *et al.* (2003) para la identificación mediante PCR de esta subespecie, si bien dicho ensayo no permite distinguir entre *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* y *P. wasabiae* (anteriormente *P. carotovorum* subsp. *wasabiae*). En todos los casos, las cepas analizadas dieron un resultado positivo en esta prueba, indicando que efectivamente podía tratarse de aislamientos de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Sin embargo, de forma imprevista, cuando estas mismas cepas fueron analizadas siguiendo un nuevo protocolo de PCR específico para *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, recientemente desarrollado por nuestro grupo, cuatro de ellas resultaron negativas, lo que nos hizo sospechar que podrían pertenecer a la especie *P. wasabiae*. De acuerdo con esta hipótesis, estas cuatro cepas se analizaron utilizando un ensayo de qPCR específico para *P. wasabiae* (Kim *et al.*, 2012), con resultado positivo en todas ellas. Finalmente, una caracterización bioquímica más completa y la secuenciación del gen 16S ARNr confirmaron la pertenencia de estas cepas a dicha especie.

Se trata, por tanto, de la primera detección de *P. wasabiae* en España.

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y PATOGENICA DE *Pseudocercospora cladosporioides*, AGENTE CAUSAL DEL EMPLOMADO DEL OLIVO

Romero, J., Ávila, A., Benali, A., Agustí-Brisach, C., Trapero, A.

Departamento de Agronomía (Patología Vegetal), ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, España.

Entre 1997 y 2003 se prospectaron un total de 65 olivares comerciales con síntomas de Emplomado en Andalucía y Cataluña. Aislados representativos de *Pseudocercospora cladosporioides* fueron seleccionados para evaluar diferentes medios de cultivo en el crecimiento micelial y esporulación del hongo, y caracterizarlos fenotípicamente y patogénicamente. Además, cuatro aislados representativos de *P. ceratoniae*, procedentes de algarrobo, fueron incluidos para comparar características morfológicas entre especies. El crecimiento micelial fue lento en todos los medios probados, siendo 'Czapek Dox V8 juice' agar (CDAM) y Patata-dextrosa-agar diluido (PDAD) los que obtuvieron un mayor crecimiento micelial. No se consiguió la esporulación del hongo en ningún medio. Se observaron dos tipos de micelio, uno con hifas gruesas y otro con hifas delgadas. Las esporas se caracterizaron por ser hialinas, septadas, ligeramente curvadas en el ápice y, en ocasiones, truncadas en la base, con una relación longitud-anchura menor (10-18.7) a la observada en *P. ceratoniae* (13.4-32.1). La tasa máxima de crecimiento micelial y las temperaturas óptimas de crecimiento estuvieron comprendidas entre 15.6-37.8 mm mes⁻¹ y 20.5-22.4°C, respectivamente. Las pruebas de patogenicidad llevadas a cabo bajo diferentes condiciones ambientales demostraron que el período mínimo de incubación para desarrollar síntomas fue de 7 días en frutos y 30 días en hojas separadas. En plántones de olivo, sólo se observó esporulación tras 11 meses de incubación, siendo las hojas jóvenes (<1 año) las únicas que resultaron infectadas. No se obtuvieron diferencias significativas de incidencia de la enfermedad para temperaturas comprendidas entre 7 y 28°C durante el proceso infeccioso. Los resultados obtenidos confirman la buena adaptación de *P. cladosporioides* al clima mediterráneo. Este trabajo supone el primer estudio detallado de la patogenicidad de este hongo. Actualmente, continuamos realizando estudios con el objetivo de mejorar el conocimiento epidemiológico de la enfermedad y establecer medidas óptimas para su control.

ASPECTOS DE LA INFECCIÓN NATURAL Y MODELIZACIÓN DEL PERÍODO DE LATENCIA DE *Fusicladium oleagineum* EN OLIVO

Romero, J.¹, Viruega, J.R.¹, Roca, L.F.¹, Gutiérrez, F.¹, Moral, J.^{1, 2}, González-Domínguez, E.³, Rossi, V.³, Trapero, A.¹

¹ Departamento de Agronomía (Patología Vegetal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, Spain.

² Department of Plant Pathology, University of California, Davis, Kearney Agricultural Research and Extension Center, 9240 South Riverbend Ave., Parlier 93648, CA.

³ Istituto di Entomologia e Patologia vegetale, Università Cattolica S. Cuore, Via E. Parmense 84, 29100 Piacenza, Italy.

El Repilo, causado por *Fusicladium oleagineum*, es posiblemente la enfermedad aérea más importante del olivo. El efecto de las condiciones ambientales en los períodos de infección y la duración del período de latencia en campo son aspectos fundamentales para complementar el modelo epidémico del Repilo. Para estudiarlos se llevaron a cabo tres experimentos: (i) plantas del cv. Picual fueron colocadas y retiradas semanalmente, durante 41 meses, bajo la copa de olivos afectados en una parcela experimental en Córdoba (España). La incidencia, severidad y período de latencia de la enfermedad fueron evaluadas y correlacionadas con variables climáticas y con la densidad de inóculo; (ii) se realizaron 17 inoculaciones durante otro período posterior de la misma duración, evaluándose el período de latencia tras la incubación en condiciones naturales; y (iii) se evaluó el efecto de la temperatura sobre el crecimiento de *F. oleagineum* en Czapek-Dox-Agar (CDA) y Harina de Garbanzo-Agar (HG). Se observó una alta relación entre incidencia y severidad ($R^2=0.997$), estando correlacionadas negativamente con la temperatura media del período de exposición de las plantas trampa. Se obtuvo un modelo de regresión para la severidad en función de la lluvia acumulada y la densidad de inóculo ($R^2=0.833$). La duración del período de incubación estuvo relacionada ($R^2=0.647$) con la temperatura media de la semana anterior a la aparición de síntomas, suprimiendo los días de inactividad del patógeno. La tasa máxima de crecimiento micelial (4.67 mm mes^{-1}) se alcanzó a 15°C con CDA. El período de latencia en condiciones naturales estuvo altamente correlacionado con la acumulación de temperaturas, ponderadas por el crecimiento micelial, en condiciones de humectación. El modelo hidrotérmico del período de latencia de las plantas infectadas artificialmente presentó un buen ajuste logístico ($R^2=0.977$). Los resultados obtenidos posibilitarán mejorar el modelo epidémico del Repilo, optimizando el número de aplicaciones fitosanitarias.

INFLUENCIA DE LA ANTRACNOSIS DEL OLIVO EN LA CALIDAD DEL ACEITE

Romero, J.¹, Santa-Bárbara, A.¹, Moral, J.^{1,2}, Agustí-Brisach, C.¹, Roca, L.F.¹, Trapero, A.¹

¹ Departamento de Agronomía (Patología Vegetal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, Spain.

² Department of Plant Pathology, University of California, Davis, Kearney Agricultural Research and Extension Center, 9240 South Riverbend Ave., Parlier 93648, CA

La Antracnosis, causada por *Colletotrichum* spp., es la principal enfermedad del fruto del olivo. En otoños cálidos y lluviosos puede afectar a la totalidad de las aceitunas en olivares comerciales, obteniéndose aceites de baja calidad. No existen estudios exhaustivos al respecto ni se conoce la influencia de las infecciones asintomáticas sobre dicha característica. En el presente trabajo se evaluaron cuatro parámetros de calidad (acidez, K232, K270 e índice de peróxidos) en aceites procedentes de aceitunas con infecciones asintomáticas y sintomáticas de los cvs. Arbequina, Hojiblanca y Picual. Se consideró el estado de maduración del fruto y los días de incubación desde la inoculación para las infecciones asintomáticas. Además, se estudió el efecto del porcentaje de frutos sintomáticos presentes (desde 0 hasta 80%). El cv. Arbequina fue el más sensible a la enfermedad, obteniendo un valor de K270 (0.09) significativamente mayor al aceite control (0.08). El cv. Picual obtuvo una acidez mayor (0.72) respecto al control (0.33) en el mayor período de incubación. Se observaron diferencias entre porcentajes de frutos sintomáticos presentes para todos los parámetros y variedades evaluadas, excepto K232 en el cv. Arbequina e índice de peróxidos en los cvs. Arbequina y Picual. Dichos parámetros mostraron una relación lineal negativa con el porcentaje de frutos sintomáticos. Existieron incrementos lineales positivos para acidez y K270 en las tres variedades evaluadas. Una proporción de aceitunas sintomáticas superior al 4.32% en el cv. Arbequina descatalogó el aceite como virgen extra, siendo necesarios porcentajes superiores al 29% y 21% en los cvs. Hojiblanca y Picual, respectivamente, para perder dicha categoría. Los resultados obtenidos muestran la importancia del control de la enfermedad, incluyendo las infecciones asintomáticas, especialmente en plantaciones superintensivas, ya que éstas han aumentado durante los últimos años, siendo el cv. Arbequina el más empleado.

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA, MOLECULAR Y PATOGENICA DE *Neofabraea vagabunda*, AGENTE CAUSAL DE LA LEPRO DEL OLIVO

Romero, J.¹, Raya, M.C.¹, Roca, L.F.¹, Moral, J.^{1,2}, Traperó, A.¹

¹ Departamento de Agronomía (Patología Vegetal), Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, Spain.

² Department of Plant Pathology, University of California, Davis, Kearney Agricultural Research and Extension Center, 9240 South Riverbend Ave., Parlier 93648, CA

La Lepra del olivo, causada por *Neofabraea vagabunda*, afecta principalmente a frutos, siendo ésta la única fase de la enfermedad descrita en España. En los últimos años, se ha observado la presencia de lesiones necróticas circulares en hojas y chancros en ramillas, mayoritariamente en el cultivar Arbequina, originando intensas defoliaciones, a pesar de la correcta aplicación de fungicidas cúpricos. *N. vagabunda* fue aislado consistentemente de tejidos sintomáticos, empleando medios genéricos y temperaturas de incubación entre 15 y 20°C. Aislados representativos de frutos, hojas y ramas afectadas fueron caracterizados atendiendo a las colonias en PDA, conidios, tasa de crecimiento micelial a diferentes temperaturas y secuenciación de las regiones ITS 5.8S, β -tubulina y MIT. Además, se realizaron bioensayos de patogenicidad sobre frutos, ramas y hojas y de sensibilidad a fungicidas. La tasa máxima y la temperatura óptima de crecimiento micelial oscilaron entre 0.54-0.73 mm/día y 14.6-19.3°C, respectivamente. La forma y tamaño de los conidios se correspondió con los del anamorfo *Phlyctema vagabunda*, no encontrándose diferencias entre aislados. También se encontró una alta homogeneidad genética. En frutos, se evaluó la influencia de heridas, estado de maduración y resistencia varietal en cuatro cultivares, siendo el cv. Blanqueta el más susceptible. Las heridas favorecieron la infección de frutos, siendo necesarias en el cv. Picual. En ramas con herida, la inoculación reprodujo los síntomas de Lepra y causó muerte apical de ramas. Los aislados evaluados resultaron tolerantes al cobre. Este es el primer estudio que describe a *N. vagabunda* como agente causal de la mancha foliar y de chancros en ramas en los cvs. Arbequina y Picual, provocando defoliación en la primera de ellas. La progresiva implantación de la recolección mecanizada, con el consiguiente aumento de heridas en hojas y ramas, podría ser la causa de la incidencia creciente de esta enfermedad en España.

EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS Y ESTRATEGIAS DE CONTROL FRENTE A *Pseudocercospora cladosporioides*, AGENTE CAUSAL DEL EMPLOMADO DEL OLIVO

Romero, J., Ávila, A., Agustí-Brisach, C., Roca, L.F., Trapero, A.

Departamento de Agronomía (Patología Vegetal), ETSIAM, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edif. C4, 14071 Córdoba, España.

El emplomado es una de las enfermedades foliares más comunes y desconocidas del olivo en todas las zonas olivereras del mundo. Tradicionalmente, el control de las enfermedades aéreas del olivo ha sido a base de fungicidas cúpricos. En busca de alternativas diseñadas específicamente para el control de esta enfermedad, se evaluaron un total de 14 productos entre compuestos cúpricos, fungicidas orgánicos y sistémicos. Se evaluó la eficacia en la inhibición del crecimiento micelial y la germinación de conidios de *Pseudocercospora cladosporioides*, agente causal de la enfermedad. Los productos que resultaron más eficaces en los ensayos *in vitro* se evaluaron en un campo comercial con alta incidencia de la enfermedad. Además, se han evaluado durante 5 años en un total de 14 campos de olivo naturalmente infectados diferentes estrategias de control, reduciendo el número de aplicaciones fitosanitarias respecto al manejo tradicional. Los benzimidazoles y las estrobilurinas fueron altamente efectivos en la inhibición del crecimiento micelial y de la germinación de conidios con una DI_{50} de 0,1 y $< 0,05$ ppm, respectivamente. Los compuestos cúpricos mostraron una elevada eficacia generalizada, mientras que los protectores orgánicos tuvieron un efecto más variable. En condiciones de campo, las estrobilurinas consiguieron reducir la incidencia de la enfermedad sin necesidad de usar fungicidas cúpricos en sus mezclas. Las dos estrategias de aplicaciones diseñadas consiguieron mantener o disminuir la incidencia de la enfermedad en un rango del 70-79 y del 3-5 % de los casos, respectivamente. En estas estrategias se consiguió reducir el número total de aplicaciones entre un 12 y un 31%. Este trabajo supone el primer estudio detallado de control de este hongo. Actualmente, se continúa la evaluación de estrategias de control eficaces y el desarrollo del modelo epidémico de la enfermedad, que redundará en un control dirigido con un menor impacto ambiental.

EPIDEMIOLOGÍA Y NUEVOS HOSPEDANTES EN CAMPO DEL VIRUS DEL RIZADO DEL TOMATE DE NUEVA DELHI, *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV)

Juárez M.¹, Gómez P.², Tayahi, M.², Gosálvez B.², y Aranda M.A²

¹Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra. De Beniel km 3,2 Orihuela 03312, Alicante, España

²Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS)- CSIC, Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, 30100 Espinardo, Murcia, España

El virus del rizado del tomate de Nueva Delhi (ToLCNDV) se detectó en España por primera vez en Murcia en el año 2012 (Juárez et al., Plant Disease 98; 857 (2013)), y posteriormente se ha ido extendiendo a otras comarcas del Sur, Este y Centro peninsular. Este virus causa grandes pérdidas económicas en los cultivos de calabacín, melón, calabaza y pepino. Para el establecimiento de estrategias de prevención y control frente a esta nueva virosis resulta necesario conocer su epidemiología y huéspedes alternativos tanto en especies cultivadas como en la flora arvense. El objetivo de este trabajo ha sido ampliar el conocimiento sobre la epidemiología molecular y gama de huéspedes de ToLCNDV, centrando nuestro trabajo en los cultivos y la flora arvense más frecuente en la zona del Sureste peninsular. Durante tres campañas (2013-2015) se tomaron 419 muestras procedentes de entre 9 especies cultivadas al aire libre y en invernadero, y 203 de entre 24 especies arvenses. ToLCNDV se detectó en 7 muestras de tomate de 46 analizadas (15%), tres de ellas en plantas asintomáticas y 4 en infección mixta con el virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV). Entre las muestras de especies arvenses analizadas se encontraron 3 hospedantes nuevos para ToLCNDV, *Ecballium elaterium*, *Datura stramonium* y *Sonchus oleraceus*, y otro hospedante, *Solanum nigrum*, ya descrito. Por otra parte, se secuenció el genoma completo de 24 aislados de ToLCNDV procedentes de plantas cultivadas de calabacín, melón, calabaza y pepino. Los análisis filogenéticos que se llevaron a cabo indican que la población de ToLCNDV en estos cultivos es genéticamente muy homogénea, y en cambio, significativamente diferente a lo descrito hasta ahora en cultivos de países asiáticos.

Estos trabajos han sido financiados por el Proyecto INIA:RTA 2013-00020-004-02

EL EFECTOR DE *Pseudomonas syringae* HopZ1a ACETILA AL REGULADOR POSITIVO DE DEFENSAS ZIP1.

Jose S. Rufián, Javier Rueda-Blanco, Diego Lopez-Marquez, Carmen R. Beuzón, Javier Ruiz-Albert

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Málaga, 29071. rufian@uma.es

Durante la interacción planta-patógeno, la célula vegetal es capaz de detectar, mediante receptores de membrana, patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), disparando una respuesta de defensa llamada PTI (*PAMP-Triggered Immunity*). Esta barrera defensiva es suficiente para evitar la infección de la gran mayoría de microorganismos. Sin embargo, algunos patógenos pueden suprimir esta respuesta de defensa mediante la translocación de proteínas, llamadas efectores, al interior de la célula vegetal. El reconocimiento específico de los efectores mediante receptores intracelulares, da lugar a una respuesta de defensa más específica e intensa llamada ETI (*Effector-Triggered Immunity*), que desencadena una muerte celular programada llamada HR (*Hypersensitive Response*).

Pseudomonas syringae es una bacteria fitopatógena gram-negativa que posee un amplio rango de hospedador. La virulencia de esta bacteria es dependiente del Sistema de Secreción Tipo III (T3SS) y de los efectores que transloca. Uno de estos efectores, HopZ1a, suprime las respuestas de defensa de la planta a distintos niveles (Macho et al., 2010; Rufián et al., 2015). HopZ1a es una acetiltransferasa perteneciente a la superfamilia de efectores YopJ, presentes en una amplia variedad de patógenos de animales y plantas. Entre las dianas descritas para los efectores pertenecientes a esta familia, se encuentran proteínas kinasa. En este trabajo, demostramos que HopZ1a interacciona con la proteína kinasa de *Arabidopsis thaliana* ZIP1, que actúa como regulador positivo de las respuestas de defensa de la planta. El efector acetila a ZIP1 en una lisina esencial para su función. Este trabajo describe el mecanismo molecular por el cual HopZ1a suprime las defensas de la planta.

DINAMICA DE POBLACIÓN DE *MELOIDOGYNE INCOGNITA* Y PÉRDIDAS DE PRODUCCIÓN DE TOMATE SUSCEPTIBLE Y RESISTENTE.

Giné, A.; Sorribas, FJ.

Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels, Barcelona; E-mail: francesc.xavier.sorribas@upc.edu

Meloidogyne spp. es el nematodo fitoparásito que causa mayores pérdidas de producción en horticultura. El uso de cultivares resistentes es una alternativa sostenible y respetuosa con el medio frente al control químico, aunque, el cultivo reiterado puede seleccionar poblaciones virulentas. En el presente estudio se determinó la dinámica de población de *M.incognita* y las pérdidas de producción en cultivo de tomate susceptible cv. Durinta y resistente cv. Monika (portador del gen *Mi*), cultivados de marzo a julio en invernadero durante tres años consecutivos.

Los grados día acumulados durante el cultivo en 2010, 2011 y 2012 fueron 1521, 1504 and 1959 (temperatura base 10°C). La dinámica de población de *M.incognita* en cultivo susceptible no difirió ($P<0,05$) durante los tres años, siendo la tasa máxima de multiplicación (a) de 3520 y la densidad de equilibrio (E) de 2151 juveniles (J2) 250cm⁻³ de suelo. En cultivo resistente, a aumentó ($P<0,05$) en cada cultivo (4, 22 y 111), al igual que E (16, 70 y 577), aunque ambos parámetros difirieron ($P<0,05$) con el susceptible. La relación entre la Pi y la producción relativa del tomate susceptible se ajustó al modelo de daño de Seinhorst, pero no el resistente. La tolerancia y la producción mínima relativa del cultivar susceptible en 2010 y 2012 fueron 2 y 4 J2 250 cm⁻³, y 0,48 y 0,44, respectivamente. La producción entre cultivares no difirió a Pi inferior a 100 y 10 J2 250 cm⁻³ en 2010 y 2012, respectivamente. A Pi superiores, el cultivar resistente produjo 1,8 y 3,5 veces más que el susceptible en 2010 y 2012.

Este estudio demuestra la efectividad del cultivar resistente para limitar el desarrollo de las poblaciones del nematodo y para reducir las pérdidas de producción. No obstante, el incremento progresivo de las poblaciones indica la selección de individuos virulentos, aunque tres cultivos no fueron suficientes para que la población fuese virulenta.

Agradecimientos a INIA y la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto RTA2010- 00017-C02

RELACIÓN ENTRE LA DENSIDAD DE INÓCULO DE *Verticillium dahliae* Y EL PROGRESO DE LA VERTICILOSIS EN CULTIVARES DE OLIVO CON DIFERENTE NIVEL DE RESISTENCIA

Ostos, E., Trapero, C., Trapero, A., López-Escudero, F.J.

Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Celestino Mutis (C4), 14071 Córdoba, España.

La relación entre la densidad de inóculo (DI) de *Verticillium dahliae* en el suelo y el progreso de la Verticilosis se ha estudiado en dos parcelas experimentales con diferente nivel de infestación natural por el patógeno (Utrera-Sevilla, altamente infestada; Arjona-Jaén, moderadamente infestada), que habían sido establecidas para evaluar la resistencia de variedades de olivo. En ambas parcelas, que tenían el mismo diseño experimental (6 bloques, 4 plantas por cultivar y bloque), se realizaron evaluaciones periódicas de los parámetros fitopatológicos y de la DI en el suelo durante 2009-2012. Se han analizado los resultados de 9 de estas variedades, agrupándolas en tres grupos: resistentes ('Frantoio', 'Empeltre' y 'Changlot Real'), moderadamente susceptibles ('Arbequina', 'Koroneiki' y 'Sevillena') y susceptibles ('Picual', 'Cornicabra' y 'Manzanilla de Sevilla'). El objetivo fue determinar las curvas de progreso de la enfermedad con el tiempo para cada uno de los grupos de resistencia mediante análisis de regresión, así como establecer las relaciones entre la cantidad final de enfermedad y la DI inicial para los grupos mencionados. Para la relación enfermedad-tiempo, en el campo de Utrera los valores se ajustaron a un modelo logístico [$y(t)=\rho_1/\{1+\exp[-(\rho_2+\rho_3 \cdot t)]\}$]. Las curvas obtenidas presentaron una $R^2 > 0.98$, estableciéndose diferencias significativas entre los tres grupos de resistencia. En el campo de Arjona, los valores se ajustaron a una regresión lineal [$y(t)=a+b \cdot x$]. Este ajuste no diferenció significativamente los grupos de variedades resistentes del de las moderadamente susceptibles, pero si existieron diferencias significativas entre el grupo de susceptibles con respecto a los otros dos. Para estudiar la relación entre la DI y los valores de enfermedad alcanzados se tuvieron en cuenta las DI de los 12 bloques de ambos campos, que variaron entre 1.8 y 17.9 MS/g. Estas correlaciones tuvieron un buen ajuste lineal con valores de R^2 elevados, excepto para el grupo susceptible, que presentó un mejor ajuste para la regresión asintótica ($y=a-b \times c^x$), ya que las variedades susceptibles alcanzaron los niveles máximos de enfermedad para $DI \geq 12.6$ MS/g.

SÍNTOMAS DE TYLCD ASOCIADOS A TOLCNDV EN VARIEDADES DE TOMATE CON RESISTENCIA A ESPECIES VIRALES CAUSANTES DE ESTA ENFERMEDAD

Alfaro-Fernández¹, A., Landeira, M.¹, Hernández-Llopis, D.¹, Estévez, J.M.², Font I.¹

¹Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universitat politècnica de València. Camino de Vera S/n, 46022, Valencia, España. mafonsa@upvnet.upv.es

²Granada-La Palma Sociedad Coop. Andaluza. C/CN340 PK342. 18730 Carchuna, Granada, España.

El complejo viral que causa la enfermedad del rizado amarillo del tomate (Tomato yellow leaf curl disease, TYLCD) y el virus del rizado del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV), son virus del género *Begomovirus*, familia *Geminiviridae*, transmitidos por mosca blanca *Bemisia tabaci* de forma persistente y pueden llegar a causar importantes daños en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Las principales especies virales detectadas en España asociadas con TYLCD son *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) y *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), que fueron detectadas por primera vez en España en cultivos de tomate en 1992 y 1997 respectivamente. ToLCNDV se detectó por primera vez en España en las campañas de 2012-2013 en cultivos de calabacín (*Cucurbita pepo* L.) de Murcia y Almería, y en 2013 en cultivo de tomate en Almería. Desde las campañas 2014-2015 se vienen observando, en diferentes variedades de tomate comercializadas como tolerantes al virus de la cuchara, síntomas de TYLCD. Debido a la similitud de síntomas causados por las especies del complejo viral que producen TYLCD y ToLCNDV en tomate, así como la resistencia de estas variedades a TYLCD, los productores empezaron a sospechar que ToLCNDV era el agente causal. Para comprobar qué virus podía estar asociados a esta sintomatología, se muestrearon en la costa de Granada diferentes invernaderos con cultivo de tomate de diferentes variedades comercializadas con distintos niveles de resistencia a TYLCV y que presentaban síntomas de la enfermedad. Las muestras se analizaron a ToLCNDV y a las diferentes especies virales asociadas a TYLCD presentes habitualmente en España (TYLCV y TYLCSV). Los resultados obtenidos revelaron que algunas de las muestras sintomáticas presentaban infección mixta de ToLCNDV y TYLCV/TYLCSV. Sin embargo, no se debe asociar la sintomatología de TYLCD en variedades resistentes al virus de la cuchara con la presencia de ToLCNDV, ya que se han detectado plantas sintomáticas de variedades resistentes a este virus que están únicamente infectadas con las especies TYLCSV y/o TYLCV. El comportamiento de las variedades con diferentes niveles de resistencia al virus de la cuchara frente al desarrollo de síntomas de la enfermedad y su infección con TYLCV/TYLCSV y/o ToLCNDV se discute en el presente trabajo.

LA UTILIZACIÓN DE SONDAS DE RNA EN ANÁLISIS POR HIBRIDACIÓN MOLECULAR E IMPRESIONES DE TEJIDO GENERA FALSOS POSITIVOS EN CUCURBITÁCEAS

Sánchez-Navarro, J.A.¹, Pallás, V.¹

¹ Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV). 46022 Valencia. E-mail: jesanche@ibmcp.upv.es

La utilización de métodos moleculares para la detección de virus y/o viroides de plantas se ha incorporado en los últimos años a la detección rutinaria de muestras vegetales. Recientemente y debido a la no disponibilidad de sueros comerciales para la detección del begomovirus del rizado del tomate de Nueva Delhi (*Tomato leaf curl New Delhi virus*, ToLCNDV), hemos puesto a punto la hibridación molecular para su detección mediante el uso de ribosondas marcadas con disoxigenina (Alfaro et al., 2016). Sin embargo, durante el análisis rutinario de muestras vegetales mediante impresiones de tejido, se observó que todas las cucurbitáceas analizadas (melón, calabacín, calabaza y sandía) dieron positivo al ToLCNDV aunque no presentaban síntomas de infección. El análisis detallado de muestras de cucurbitáceas mediante impresiones de tejido y extracciones rápidas con tampón citrato sódico (Sánchez-Navarro et al. 1996) puso de manifiesto la presencia de señal de hibridación solo en las impresiones de tejido. Resultados similares se obtuvieron utilizando una ribosonda no relacionada. Sin embargo, la utilización de sondas de DNA para la detección de ToLCNDV permitió detectar solo los tejidos infectados indicando que la señal observada en las impresiones de tejido era generada por la unión inespecífica de las ribosondas. Finalmente, el análisis comparado de sondas de DNA y RNA para la detección de ToLCNDV permitió comprobar que las ribosondas son 125 o 5-25 veces más sensibles para la detección de transcritos complementarios o tejido infectado, respectivamente. Experimentos preliminares sugieren que los falsos positivos observados en cucurbitáceas se deben a la interacción de la sonda con abundantes proteínas con capacidad de unión a RNA presentes en el exudado floemático de estas especies (Pallas y Gomez, 2013).

Alfaro et al., 2016. J. Plant Pathol. En prensa

Pallas, V. y Gomez, G. 2013. Front. Plant Sci 4 : 1-6.

Sánchez-Navarro et al. 1996. Plant Pathology 45: 375-382.

SUPERVIVENCIA AL CHANCR O RESINOSO Y SEQUÍA EN POBLACIONES DE *Pinus pinaster* Y SU POTENCIAL ADAPTATIVO ANTE UN ESCENARIO DE CAMBIO CLIMÁTICO

Elvira-Recuenco, M.¹, Gaspar, M.J.², Iturritya, E.³, Alia, R.^{4,5}, Raposo, R.^{1,5}

¹ Departamento de Selvicultura y Gestión de Sistemas Forestales, INIA-CIFOR, Ctra. La Coruña Km 7.5, 28040 Madrid, España

² Departamento de Genética e Biotecnología, Universidade de Tras os Montes e Alto Duro, Vila Real, Portugal

³ NEIKER, Granja Modelo – Arkaute, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz, España

⁴ Departamento de Ecología y Genética Forestales, INIA-CIFOR, Ctra. La Coruña Km 7.5, 28040 Madrid, España

⁵ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, Universidad de Valladolid-INIA, Avda. Madrid s/n, 34004 Palencia, España

El efecto del cambio climático y del movimiento de material vegetal en la distribución de patógenos y su adaptabilidad al huésped es de gran relevancia. *Fusarium circinatum*, causante del chancro resinoso del pino, es un hongo patógeno de reciente introducción en España que amenaza las masas forestales de *Pinus pinaster*, especie autóctona. Una colección clonal de *P. pinaster* con estructura de 10 poblaciones, 50 familias y 250 individuos fue testada para supervivencia a sequía (Gaspar et al. 2013) y a *F. circinatum* (Elvira-Recuenco et al. 2014). Se estudiaron las correlaciones entre las variables testadas de ambos caracteres para población, familia e individuo mediante coeficiente de Pearson y componentes principales. Se encontraron correlaciones significativas positivas ($P < 0.05$) entre la supervivencia a sequía y a *F. circinatum* siendo los coeficientes de correlación de Pearson > 0.80 para población y aproximadamente de 0.30 para familia. En el análisis de componentes principales, para población, los tres primeros componentes principales (PC) representaron el 83.1 % de la varianza total (PC1, 52.2 %), para familia, el 80.3 % (PC1, 46.6 %), y para individuo, el 80.7 % (PC1, 47.2 %). En las poblaciones, PC1 estuvo positivamente correlacionado con la supervivencia a sequía y a *F. circinatum*, sin embargo PC2 y PC3 no tuvieron peso en estos caracteres, pero sí en caracteres biométricos de la planta. Según PC1 y PC2, existe un grupo de tres poblaciones de Asturias y Pontevedra con la mayor supervivencia a ambos caracteres mientras que el grupo con la menor supervivencia está formado solamente por la población de Marruecos. En familias e individuos, fueron los componentes PC1 y PC3 los que tuvieron mayor peso en la supervivencia a *F. circinatum* y sequía respectivamente. Se discuten las implicaciones de estas correlaciones en el control genético de ambos caracteres y su valor adaptativo.

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD SUPRESORA DE SILENCIAMIENTO GÉNICO EN EL VIRUS 1 DEL MARCHITAMIENTO DEL HABA

Carpino, C.^{1,2}, Davino, S.^{2,3}, Peri, E.^{2,3}, Rubio L.^{1,3}, Galipienso, L.^{1,3,4}

¹Departamento de Virología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia. galipienso_lui@gva.es.

²Department of Agricultural and Forestry Science, University of Palermo, Palermo, Italia.

³EuroMediterranean Institute for Science and Technology (IEMEST), Palermo, Italia.

⁴ Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València (UPV), Valencia.

El virus 1 del marchitamiento del haba (*Broad bean wilt virus 1*, BBWV-1) causa daños en muchos cultivos hortícolas y ornamentales de todo el mundo. A pesar de ello se conoce muy poco su biología molecular. El estudio de los determinantes de patogenicidad o virulencia es importante para poder desarrollar métodos de control de la enfermedad producida por el virus. En este trabajo se ha evaluado la capacidad de la supresión de silenciamiento de distintas proteínas de BBWV-1: la proteína de movimiento (*movement protein 1*, MP1) y una variante de ella producida por un inicio de traducción posterior (MP2) y las dos proteínas capsídicas (*large coat protein*, LCP, y *small coat protein*, SCP). Se agroinocularon construcciones de las zonas genómicas que codifican estas proteínas junto una construcción que expresa la proteína de fluorescencia verde (green fluorescent protein, GFP) en plantas transgénicas de *Nicotiana benthamiana* de la línea 16c, que expresan de forma constitutiva la GFP. Al cabo de cuatro días se observaron distintas intensidades de fluorescencia en las zonas agroinfiltradas para algunas de las proteínas virales en comparación con el control negativo que no mostró fluorescencia y el control positivo, una construcción que expresa el gen p19 del virus del enanismo ramificado del tomate (*Tomato Bushy stunt virus*, TBSV) que mostró una elevada fluorescencia. Estos resultados sugieren que estas proteínas podrían ser candidatas a supresoras de silenciamiento génico y que pueden diferir en su actividad.

Agradecemos la beca de estudio concedida a C. Carpino financiada por la Universidad de Palermo.

DIVERSIDAD DE ESPECIES DE *Pythium* ASOCIADAS A CASTAÑARES DE DISTINTAS REGIONES

Mora-Sala, B., Fernández, D., Català, S., Abad-Campos, P.

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, España. pabadcam@eaf.upv.es

El castaño (*Castanea sativa* Mill.), especie de importancia económica en la cuenca mediterránea, presenta diversos aprovechamientos de interés, tanto forestales por la obtención de fruto y madera, como por su contribución paisajística y otros valores ambientales. La enfermedad de la tinta, tradicionalmente asociada a *Phytophthora cinnamomi* y *Phytophthora cambivora*, continúa siendo un grave problema fitosanitario de los castaños, constatándose un aumento de su incidencia y severidad. Por ello, se ha realizado una prospección en distintas regiones de Galicia, Cataluña, Extremadura y Andalucía, aislándose oomicetos de suelo y raíces de castaño, tanto con síntomas de tinta como asintomáticos. Cabe destacar el elevado número de aislados obtenido del género *Pythium sensu lato* asociados a la rizosfera del castaño. Se amplificó y secuenció la región ITS del ADNr y la identificación de los aislados se basó en el análisis filogenético de estas secuencias. Los resultados indican alta diversidad de especies de *Pythium s.l.* asociadas a poblaciones de castaño, aunque se desconoce las interacciones que puedan tener con *Phytophthora* spp. y, por tanto, su papel en el decaimiento de los castaños.

Financiación: Ministerio de Economía y Competitividad. Programa Estatal I+D+i proyecto ref. AGL2014-53822-C2-2-R.

EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE CONTROL DE LA “MANCHA NEGRA” DE LA CHUFA

Alvares, D.¹, Armero, C.¹, Forte, A.¹, Galipienso, L.^{2,3,4}, Rubio, L.^{2,3}

¹Departament d'Estadística i Investigació Operativa, Facultat de Matemàtiques, Universitat de València, Burjassot, Valencia.

²Departamento de Virología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia. lrubio@ivia.es.

³Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de València (UPV), Valencia.

⁴EuroMediterranean Institute for Science and Technology (IEMEST), Palermo, Italia.

La chufa, que se utiliza para la elaboración de la horchata, es uno de los cultivos más rentables de la huerta valenciana. Se estima que cada año se cultivan unas 400 hectáreas con una producción aproximada de 5.000 toneladas de chufa seca. Sin embargo, en los últimos cinco años el avance de la llamada enfermedad de la “mancha negra” está produciendo una merma del rendimiento y calidad del cultivo de la chufa. La “mancha negra” consiste en un ennegrecimiento de la piel de un porcentaje de tubérculos cosechados que tienen que descartarse y ocasiona una disminución del precio de las partidas dañadas. La causa de este síndrome es desconocida, aunque hay indicios de podría deberse a un patógeno. En este trabajo se evaluaron dos métodos generales de control de enfermedades que se suelen aplicar contra bacterias, hongos y virus. El primer método ensayado, la selección de tubérculos asintomáticos como simiente (dado que no hay ninguna garantía de obtener tubérculos sanos, libres de patógeno), produjo una reducción considerable de la incidencia de la “mancha negra”. El segundo método consistió en ensayar varios tratamientos térmicos y químicos en tubérculos simiente muy afectados por la “mancha negra”. El tratamiento térmico redujo la incidencia de este síndrome, pero también se produjo una merma en la tasa de germinación lo que repercute negativamente en la producción en la cosecha. Algunos de los tratamientos químicos redujeron la incidencia de la “mancha negra”, siendo el más efectivo el tratamiento con hipoclorito sódico.

El trabajo de D. Alvares ha sido financiado por Coordination for the Improvement of Higher Level Personnel (BEX: 0047/13–9), Brasil. El trabajo de Armero y Forte ha sido parcialmente financiado por los proyectos MTM2013–42323–P del Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España y ACOMP/2015/202 de la Generalitat Valenciana. El trabajo experimental ha sido financiado por el IVIA y la Unión Europea (FEDER) bajo el proyecto 5421.

METAGENÓMICA DE HONGOS Y BACTERIAS DE LA CHUFA

Galipienso, L.^{1,2,3}, Peiró, R.⁴, Olmos, A.¹, Rubio, L.^{1,3}

¹Departamento de Virología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia. lrubio@ivia.es.

² Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de Valencia (UPV), Valencia.

³EuroMediterranean Institute for Science and Technology (IEMEST), Palermo, Italia.

⁴Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana - Universitat Politècnica de València (COMAV-UPV), Valencia.

La chufa (*Cyperus esculentus*), utilizada para la elaboración de la horchata, es uno de los cultivos más rentables de la huerta valenciana. Se estima que cada año se producen unas 5.000 toneladas de chufa, con una superficie cultivada de unas 400 hectáreas. Sin embargo, en los últimos cinco años el avance del síndrome denominado “mancha negra” está produciendo una merma del rendimiento y calidad del cultivo de la chufa. Actualmente se desconoce la etiología de la “mancha negra” aunque hay indicios de que podría deberse aun microorganismo patogénico. En este trabajo se llevó a cabo la identificación de hongos y bacterias en tubérculos asintomáticos y con síntomas graves, mediante secuenciación masiva a partir de productos de PCR obtenidos con cebadores universales de los genes de los RNAs ribosómicos 18S y 16S para hongos y bacterias, respectivamente. Según la identidad nucleotídica entre las secuencias generadas y las de la base de datos Genbank se pudo determinar algunas veces la especie y en otros casos el género o familia al que pertenece el organismo. Además, mediante el número de lecturas de una misma secuencia fue posible realizar una estimación de la cantidad relativa de los organismos identificados. Este análisis mostró 86 secuencias distintas correspondientes a especies o taxones de hongos y 287 secuencias distintas de especies o taxones de bacterias. Se encontraron algunas secuencias, tanto de hongos (pertenecientes a los géneros *Fusarium* y *Rhizopus*) como bacterias (géneros *Janthinobacterium* y *Erwinia*), que estaban presentes en los tubérculos con síntomas graves de la “mancha negra” y ausentes o en baja cantidad en los tubérculos asintomáticos. Estas secuencias son candidatas para diseñar cebadores específicos para la detección de estos microorganismos y llevar a cabo estudios para determinar si son los agentes causantes de la “mancha negra”.

Agradecimientos al IVIA y a la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto 5421.

DETECCION DEL VIRUS MERIDIONAL DEL TOMATE POR HIBRIDACIÓN MOLECULAR

Puchades, A.V.¹, Carpino, C.^{1,2}, Alfaro-Fernandez, A.³, Font-San-Ambrosio, M.I.³, Espino, A.⁴, Benito, P.⁵, Serra J.⁶, Rosello, J.⁶, Davino, S.², Guerri, J.¹, Rubio, L.^{1,7}, Galipienso L.^{1,7,8}

¹ Departamento de Virología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia. galipienso_lui@gva.es.

²Department of Agricultural and Forestry Science, University of Palermo, Palermo, Italia.

³Grupo de Virología, Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de Valencia (UPV), Valencia.

⁴Laboratorio de Sanidad Vegetal, Consejería de Agricultura Ganadería Pesca y Aguas, Dirección General de Agricultura, Tenerife.

⁵Laboratorio de Fitopatología, Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca, Cabildo de Gran Canaria, Gran Canaria.

⁶Estació Experimental Agraria de Carcaixent, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carcaixent, Valencia.

⁷EuroMediterranean Institute for Science and Technology (IEMEST), Palermo, Italia.

⁸Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de Valencia (UPV), Valencia.

El virus meridional del tomate (*Southern tomato virus*, STV) es un virus que tiene un genoma de RNA bicatenario y pertenece al género *Amalgavirus* de la familia *Amalgamaviridae*. STV se ha detectado en plantas de tomate con síntomas de enanismo, decoloración y reducción del tamaño, aunque el papel del virus en el desarrollo de los síntomas no está claro. Tampoco hay información sobre la incidencia y epidemiología de este virus y como se dispersa en campo. En este trabajo, se desarrolló un método de hibridación molecular con una sonda de RNA marcada con digoxigenina para detectar STV. Esta técnica se ensayó con distintos extractos de material vegetal y fue lo suficientemente sensible para detectar el virus en extractos crudos, obtenidos simplemente triturando la muestra en tampón, procedentes de hojas, frutos, raíces y semillas. Se llevaron a cabo muestreos en tres áreas productoras de tomate importantes: Comunidad Valenciana, Islas Canarias y Sicilia en Italia. El virus detectó en variedades de tomate tanto locales como comerciales con una incidencia entre el 20 y el 74%.

Agradecemos al INIA y la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto E-RTA2014-00010-C02.

EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN ENTRE AISLADOS DEL VIRUS DEL BRONCEADO DEL TOMATE CAPACES O INCAPACES DE SUPERAR LA RESISTENCIA *TSW* DE PIMIENTO

Elvira, L.¹, Galipienso, L.^{1,2,3}, López, C.⁴, Peiró, R.⁴, Rubio, L.^{1,2}

¹Departamento de Virología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia. lrubio@ivia.es.

² Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de Valencia (UPV), Valencia.

³EuroMediterranean Institute for Science and Technology (IEMEST), Palermo, Italia.

⁴Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de Valencia (COMAV-UPV), Valencia.

El virus del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) produce graves daños en un gran número de cultivos hortícolas. En pimiento, el mejor método de control de la enfermedad es la introducción del gen de resistencia *Tsw* en variedades comerciales mediante mejora genética. Sin embargo, en España y otros países han aparecido aislados capaces de superar esta resistencia (*Resistance Breaking*, RB). Recientemente se ha descrito un nuevo síndrome, consistente en necrosis sistémica en plantas de pimiento resistente al ser coinoculadas con un aislado RB y otro que no supera la resistencia (*Wild Type*, WT). En este trabajo se evaluó la acumulación del segmento genómico S (donde se encuentra el factor de avirulencia) de dos aislados de TSWV de tipo RB y WT en inoculaciones individuales o dobles en variedades de pimiento susceptible y resistente (cinco plantas en cada caso). Nuestros resultados mostraron: A) El aislado RB se acumuló más que el aislado WT en la variedad susceptible. B) Cuando se inocularon los dos aislados conjuntamente, RB no se vio afectado tanto en la variedad susceptible como en la resistente, mientras que WT solamente infectó unas pocas plantas en la variedad susceptible y resistente. La acumulación del aislado WT en variedades de pimiento resistente junto a la aparición de algunas lesiones necróticas en hojas apicales (no inoculadas) indican una interacción sinérgica entre estos dos tipos de aislados de TSWV en variedades de pimiento con el gen *Tsw*.

Agradecimientos al INIA y a la Unión Europea (FEDER) por financiar el proyecto RTA2013-00047-C02.

PROSPECCIONES EN CAMPOS DE TOMATE Y PIMIENTO DE LA COMUNIDAD VALENCIANA INDICAN MAYOR RIESGO DE INFECCIÓN VIRAL EN CULTIVOS CONVENCIONALES QUE EN ECOLÓGICOS

Lázaro, E.^{1,2}, Armero, C.¹, Roselló, J.³, Serra, J.³, Muñoz, M.J.⁴, López, C.⁵, Galipienso, L.^{2,6,7}, Rubio, L.^{2,7}

¹Departament d'Estadística i Investigació Operativa, Facultat de Matemàtiques, Universitat de València, Burjassot, Valencia.

²Departamento de Virología. Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada, Valencia. lrubio@ivia.es.

³Estació Experimental Agraria de Carcaixent, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carcaixent, Valencia.

⁴Laboratorio de Diagnóstico Fitopatológico-Virología, Generalitat Valenciana, Silla, Valencia

⁵Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana, Universitat Politècnica de Valencia (COMAV-UPV), Valencia.

⁶Departamento de Biotecnología, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universitat Politècnica de Valencia (UPV), Valencia.

⁷EuroMediterranean Institute for Science and Technology (IEMEST), Palermo, Italia.

Uno de los grandes retos de la agricultura es conseguir un sistema de producción sostenible que garantice el alimento, respetando el medio ambiente y la salud humana. Las dos últimas premisas se cumplen con la agricultura ecológica, pero se han planteado dudas sobre su capacidad productiva y de control de enfermedades y plagas. Según el paradigma agroecológico, una mayor calidad de la tierra y diversidad vegetal (cultivos y plantas silvestres), resultaría en una mayor protección del cultivo al estar bajo condiciones menos estresantes y favorecerse procesos ecológicos antagonicos. Sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios rigurosos sobre esto. En este trabajo, se evaluó el riesgo de infección de los virus del mosaico del tomate (*Tomato mosaic virus*, ToMV), del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*, CMV) y del bronceado del tomate (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) en parcelas de tomate y pimiento de la Comunidad Valenciana en dos años. Este análisis mostró que en los dos años el riesgo de infección fue casi la mitad en los cultivos ecológicos cuando el muestreo se llevó a cabo en junio. Sin embargo, cuando las mismas parcelas volvieron a muestrearse en septiembre, el riesgo de infección aumentó en los cultivos ecológicos hasta alcanzar un nivel similar al de los cultivos convencionales el cual se mantuvo prácticamente constante.

El trabajo de C. Armero ha sido parcialmente financiado por los proyectos MTM-2013-42323-P del Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España y ACOMP/2015/202 de la Generalitat Valenciana. El trabajo experimental ha sido financiado por el INIA bajo el proyecto RTA2013-00047-C02.

PERFIL MICOTOXIGÉNICO DE ESPECIES DE *Fusarium* DETECTADAS EN MAÍZ FORRAJERO EN GALICIA

González-Jartín, J.M.¹, Alfonso, A.¹, Botana, L.M.¹, Agúin, O.², Ferreiroa, V.², Mansilla, J.P.², Bande M.J.³, Sainz, M.J.⁴

¹ Departamento de Farmacología, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n, 27002 Lugo, España. mj.sainz@usc.es

² Estación Fitopatológica de Areeiro, Deputación de Pontevedra, Subida a la Robleda s/n, 36153 Pontevedra, España.

³ Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), Instituto Galego de Calidade Alimentaria (INGACAL), Apdo. 10, 15080 A Coruña, España.

⁴ Departamento de Producción Vegetal, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario s/n, 27002 Lugo, España. mj.sainz@usc.es

Distintas especies del género *Fusarium* son patógenos habituales en el cultivo de maíz en todo el mundo, ocasionando menores rendimientos y también pérdidas de calidad debido a que producen micotoxinas en pre-cosecha. Las especies que se han encontrado con mayor frecuencia en los granos son *F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. cerealis* y *F. avenaceum*; la especie más patógena y agresiva en tallos es *F. graminearum*. Las micotoxinas que producen se asocian con micotoxicosis crónicas o agudas en ganado y, en menor medida, en seres humanos. En 2012, se detectaron *F. cerealis*, *F. cortaderiae*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sterilihyphosum* y *F. temperatum*, con mayor incidencia respecto a otras especies del género que se encontraron en menor medida, en tallos, hojas y granos de un cultivo de maíz forrajero de Galicia, en el momento de corte para ensilado. En este trabajo se estudió la capacidad de producir micotoxinas de cultivos representativos de cada especie en medio PDA así como en inóculo de granos de trigo, que se obtuvo mediante cultivo, durante tres semanas, del correspondiente aislado en granos de trigo esterilizados. El perfil de micotoxinas se estudió mediante un equipo de cromatografía líquida de ultra-alta definición conectado a un espectrómetro de masas con analizadores de tiempo de vuelo y trampa de iones (UPLC-IT-TOF-MS). Las micotoxinas detectadas en conjunto, con diferencias entre especies, fueron deoxynivalenol, neosolaniol, zearalenona, toxina T2, beauvericina, enantinas y moniliformina. *Fusarium sterilihyphosum*, que es un patógeno de mango y cuyo perfil micotoxigénico apenas ha sido estudiado con anterioridad, produjo moniliformina y beauvericina. Esta es la primera vez que se demuestra la capacidad de *F. sterilihyphosum* para producir beauvericina, un hexapéptido cíclico citotóxico para células de mamíferos y que causa apoptosis en líneas celulares de roedores y seres humanos.

DISTRIBUCIÓN, SEVERIDAD E INCIDENCIA DE *Gremmeniella abietina* EN MASAS DE REPOBLACIÓN DE *Pinus halepensis* EN CASTILLA Y LEÓN.

ROMERALO, C.¹, CÔTÉ C.², LAFLAMME G.², SANTAMARÍA, O.³, DIEZ, J.J.¹

¹ Instituto Universitario de Gestión Forestal Sostenible, Universidad de Valladolid-INIA, Avda. Madrid 44, Edificio E, 34004 Palencia, Spain.

² Laurentian Forestry Centre, Natural Resources Canada, 1055 Rue du P.E.P.S., G1V 4C7, Quebec, QC, Canada.

³ Dpto. Ingeniería del Medio Agronómico y Forestal. Escuela de Ingenierías Agrarias (Universidad de Extremadura). Avda. Adolfo Suárez, s/n. 06007 Badajoz, Spain.

E-mail: carmen.romeralo@pvs.uva.es

Gremmeniella abietina (Lagerberg) Morelet es un hongo patógeno que produce daños severos en bosques de coníferas, produciendo la muerte de los árboles, con una distribución en el centro y norte de Europa, Norteamérica y Japón. En España, el hongo se detectó por primera vez en 1933 sobre *Pinus pinaster* aunque sólo se ha aislado de pies sintomáticos de pino carrasco en 2001. En ese mismo año, 41 masas de pino carrasco en las provincias de Palencia y Valladolid fueron evaluadas para conocer la distribución e incidencia del patógeno. *G. abietina* fue detectado en 5 aunque 25 de ellas presentaron los síntomas típicos que produce la infección del hongo. Durante agosto de 2012, las mismas masas fueron revisadas de nuevo para conocer su estado sanitario. En cada masa, se estableció una parcela de 10m de radio y todos los árboles de su interior fueron evaluados. Las parcelas se situaron en zonas con síntomas de decaimiento (defoliación y decoloración de las acículas) y se tomaron muestras de 4 árboles por masa para conocer si *G. abietina* era el hongo responsable de estos daños. Los resultados mostraron que 11 años después de su detección se observaron cuerpos de fructificación en 3 de las 41 parcelas muestreadas. Sin embargo, la mayoría de las parcelas mostraron síntomas de decaimiento, sugiriendo otros posibles factores, o la combinación de varios, como responsables de estos síntomas.

Palabras clave: Defoliación, decoloración, decaimiento, hongos patógenos.

EPIDEMIOLOGÍA DE *Candidatus phytoplasma pyri* EN MELOCOTONERO

Sabaté, J., Artigues, M., Rodón, J., Laviña, A., Batlle, A.

Institut de Recerca i Tecnologia Agrolimentàries (IRTA). Dpt. de Protecció Vegetal Sostenible. Ctra de Cabrils Km 2. 08348 Barcelona

En el año 2013 se identificaron en el área frutícola de Lleida, distintos focos con síntomas de fitoplasmas en parcelas de melocotonero. Mediante PCR se identificó a *Candidatus phytoplasma pyri*, agente causal del decaimiento del peral (PD). La secuenciación de distintos fragmentos de su genoma indicaron que el aislado de melocotonero era idéntico al de los perales de la zona y diferente a los aislados Norteamericanos causantes del PD y Peach yellow leaf roll (PYLR) en aquel país (1).

El objetivo de este trabajo ha sido determinar el papel en la transmisión del fitoplasma de peral a melocotonero de *Cacospsylla pyri*, vector del PD, y la implicación de otras especies de insectos en la transmisión entre melocotoneros. Se realizó un seguimiento de vectores de fitoplasmas en las parcelas afectadas, mediante la colocación de trampas cromáticas en el exterior e interior de las parcelas de melocotonero, las cuales se reemplazaron cada 15 días. Los insectos fueron clasificados y analizados mediante PCR, para determinar si eran portadores del fitoplasma. Asimismo, se realizaron ensayos de transmisión a melocotonero y medios azucarados para determinar su transmisión y la eficiencia de sus vectores. Las poblaciones de *C.pyri* en el interior de las parcelas de melocotonero aumentaron a finales verano, produciéndose un pico de capturas a principios de octubre. Los resultados apuntan a *C.pyri* como principal responsable de la transmisión del fitoplasma de peral a melocotonero. Esta patogénesis sería similar a la ocurrida en EEUU donde *C. pyricola* transmite *Ca. P. pyri* tanto a melocotonero como a peral.

Referencias (1). Sabaté, J., Laviña, A., Batlle, A. 2014. First report of '*Candidatus Phytoplasma pyri*' causing Peach yellow leaf roll (PYLR) in Spain. Plant Disease 98(7): 989.

Investigación financiada por el proyecto INIA RTA2013-00097-00-00

EPIDEMIOLOGÍA DE LOS EUROPEAN STONE FRUIT YELLOWS CAUSADOS POR *Candidatus Phytoplasma prunorum* EN EL ÁREA FRUTÍCOLA DE TARRAGONA: APETENCIAS DEL VECTOR *Cacopsylla pruni* (Hemiptera: Psyllidae) POR DISTINTOS HUÉSPEDES.

Laviña, A¹, Martínez-Ferrer, MT², Sabaté, J,¹ Campos-Rivela, JM², Fibla, JM², Batlle, A¹

¹IRTA- Cabrils. Patología. Protección Vegetal Sostenible. Ctra. de Cabrils, Km 2, E-08348 Cabrils (Barcelona), España

²IRTA-Amposta. Entomología. Protección Vegetal Sostenible. Ctra. de Balada, Km 1. E- 43870 Amposta (Tarragona), España.

Candidatus Phytoplasma prunorum es el causante de los European Stone Fruit Yellows (ESFY) y afecta a la mayoría de especies del genero *Prunus*. La incidencia de la enfermedad está relacionada con las poblaciones de *Cacopsylla pruni* (Scopoli). El objetivo de este trabajo ha sido determinar la diseminación de este fitoplasma en la zona frutícola de Tarragona y la relación de la incidencia con la presencia del vector. Paralelamente se han evaluado las preferencias alimenticias de *C. pruni*, con el fin de determinar las especies silvestres con mayor involucración en la diseminación de la enfermedad. Así mismo, se ha determinado si la preferencia del vector por un huésped determinado, aumentaba cuando éste estaba infectado, como ocurre con *Cacopsylla picta* y los manzanos infectados por *Ca. P. mali*. Este fenómeno ha permitido en el caso del manzano, aislar cairomonas atrayentes para el vector, que pueden utilizarse en trampas de captura masiva.

Los resultados obtenidos han mostrado que la enfermedad está presente en parcelas de ciruelo y de albaricoquero, tanto de El Montsià como de La Ribera d'Ebre. Las poblaciones más importantes de *C. pruni* se determinaron en las parcelas con mayor incidencia de la enfermedad, con un porcentaje de portadores entorno al 50%. En cuanto a las preferencias del vector por los distintos huéspedes, infectados y no infectados, mostraron que la mayor preferencia por los huéspedes infectados se produjo en *P. spinosa*, no observándose diferencias significativas para *P. salicina* y *P. cerasifera*. Comparando los distintos huéspedes, la mayor apetencia se determinó para *P. cerasifera*, *P. spinosa* y *P. salicina* y en menor grado para *P. armeniaca*.

Investigación financiada por el proyecto INIA RTA2013-00097-00-00

VECTORES POTENCIALES DE *Xylella fastidiosa* EN ZONAS VINÍCOLAS Y OLIVARERAS DEL NORDESTE ESPAÑOL. DINAMICA POBLACIONAL DE *Philaenus spumarius*.

Sabaté, J., Laviña, A., Ortega, J., Batlle, A.

Institut de Recerca i Tecnologia Agrolimentàries (IRTA). Dpt de Protecció Vegetal Sostenible. Ctra de Cabrils Km 2. 08348 Barcelona. e.mail:assumpcio.batlle@irta.cat

Xylella fastidiosa es una bacteria gram negativa limitada al xilema, donde se adhiere a las paredes celulares. *X. fastidiosa* obtura los vasos y dificulta el movimiento del agua, produciendo marchitamiento y desecación de las plantas afectadas. *X. fastidiosa* causa enfermedades muy graves en cultivos como vid, almendro, cítricos y olivo entre otros. Se han identificado más de 300 especies vegetales como huéspedes, muchas de ellas sin daños aparentes y actuando como reservorios. La identificación en Italia de *X. fastidiosa* causando graves daños en olivo en 2013, ha intensificado las prospecciones e identificación de vectores en toda Europa. Desde el 2002 se han identificado en el nordeste español potenciales insectos vectores de esta bacteria, pertenecientes a cinco géneros: *Aphrophora* spp., *Cercopis* spp., *Cicadella viridis*, *Neophilaenus* spp., y *Philaenus spumarius*.

En este trabajo se presentan los resultados de las prospecciones de síntomas e identificación de vectores potenciales, realizada en áreas vinícolas y olivareras de Cataluña durante los dos últimos años y especialmente de *P. spumarius*, del cual se ha seguido su dinámica poblacional. Muestras de olivo y vid de las parcelas estudiadas, plantas ornamentales, especies silvestres, así como los vectores potenciales capturados, se han analizado mediante PCR y PCR real-time con los cebadores y sonda de Francis et al. 2006. Asimismo, se está implementando un modelo predictivo de vuelo de los primeros adultos de *P. spumarius* en campo para conocer las fechas con peligro de dispersión del insecto y la enfermedad. Todas las muestras de plantas e insectos analizadas han resultado negativas.

Referencias. Francis, M., Lin, H., Cabrera-La Rosa, J., Doddapaneni, H. and Civerolo, E.L. 2006. European Journal of Plant Pathology (2006) 115:203–213

ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LA DISPERSIÓN NATURAL DE Plum pox virus Y Citrus tristeza virus BASADAS EN LA ESTIMA DEL NÚMERO DE PULGONES VIRULÍFEROS QUE VISITAN PLANTAS HUÉSPEDES.

Mariano Cambra

Centro de Protección vegetal y Biotecnología. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Jubilado (mcambra@mcambra.es).

El 41% de virus de plantas son transmitidos por pulgones. Plum pox virus (PPV) se transmite de forma no persistente por un rápido proceso activo de egestión (salivación asociado a inoculación) e ingestión asociado a adquisición. En el mismo, actúa de puente entre receptores específicos localizados en la cutícula del estilete del vector y la capsida viral la proteinasa HC-Pro factor auxiliar de la transmisión codificada por el virus. Citrus tristeza virus (CTV) se transmite de forma semipersistente y menos sofisticada. Mediante gráficos de penetración electrónica (EPGs) se conoce el hábito alimenticio de pulgones. En el ciclo vital anual la dinámica poblacional de hembras partenogenéticas alcanza picos importantes relacionados con la altitud, latitud y las condiciones climáticas del año. Las especies inmigrantes son más eficientes en dispersar virus que las colonizadoras. *Aphis spiraecola*, *Phorodon humili*, *Hyalopterus pruni* y *Myzus persicae* son las principales especies vectoras de PPV y *Toxoptera citricida*, *A. gossypii* y *A. spiraecola* las de CTV. La intensidad vectorial (producto de la propensión y la actividad vectorial) puede predecir epidemias. Unas 4.600 dianas ARN-PPV inoculadas por un *M. persicae* en una sola prueba producen infección sistémica en el 20% de las plantas inoculadas. El uso de plantas pegajosas estima el número real de vectores que aterrizan por árbol en primavera (141.000 en ciruelo japonés, 266.700 en clementinos o 15 millones/ha. de vivero de frutales de hueso) y el porcentaje de virulíferos se puede estimar por escachado-RT-PCR en tiempo real. Los modelos temporales y espaciales de dispersión de ambos virus se han estudiado ya que las medidas contra la actividad vectorial y la transmisión son muy efectivas para mitigar epidemias. La reducción de la población de vectores mediante tratamientos insecticidas no es eficaz ya que durante el breve periodo de prueba PPV o CTV son inoculados más rápido que actúa el insecticida. En cambio, el uso de barreras físicas (mallas anti pulgón, aceites minerales, etc.) así como plantas pantalla-resistentes a la infección, reducen la transmisión.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE *BOTRYTIS CINEREA* NEGATIVE-STRANDED RNA VIRUS-1, UN MICOVIRUS ÚNICO RELACIONADO CON VIRUS DE PLANTAS

Livia Donaire¹, Israel Pagán² y María A. Ayllón²

¹ Centro de Investigaciones Biológicas, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CIB-CSIC), 28040, Madrid, Spain.

² Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas. Universidad Politécnica de Madrid (UPM)-Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Campus de Montegancedo, Pozuelo de Alarcón 28223, Madrid, Spain;

Departamento Biotecnología-Biología Vegetal, E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas, UPM, 28040 Madrid, Spain

En los últimos años ha aumentado considerablemente el interés de micólogos y virólogos por el descubrimiento de nuevos micovirus, por su uso potencial para estudios de genómica funcional del hongo, como vectores de expresión, y como agentes de biocontrol de hongos. En este trabajo presentamos la caracterización molecular de un micovirus de RNA de simple cadena y sentido negativo ((-) ssRNA) infectando al hongo patógeno de plantas *Botrytis cinerea*. La secuencia genómica de este micovirus, *Botrytis cinerea* negative-stranded RNA virus-1 (BcNSRV-1), obtenida por secuenciación masiva, tiene una longitud de 8543 nts, con una región 5' no codificante (NCR, non-coding region) de 184 nts y una 3' NCR de 49 nts. BcNSRV-1 tiene un solo marco de lectura abierta de 8310 nts, que codifica para una proteína de 2769 amino ácidos con el motivo más conservado, GDD, de las RNAs polimerasas dependientes de RNA (RdRp, RNA dependent RNA polymerase) de virus de RNA. La secuencia del genoma de BcNSRV-1 muestra identidad con las RdRps de virus patógenos de plantas del género *Emaravirus*, y contiene todas las señales moleculares presentes en la RdRp de estos virus, y de otros géneros de la familia *Buyanviridae*: el triplete conservado TPD y el dinucleótido RY, los tres residuos básicos del premotivo A y los motivos conservados A, B, C, D, y E. Análisis filogenéticos también muestran proximidad genética entre BcNSRV-1 y los emaravirus; y la reconstrucción ancestral realizada usando los motivos conservados de las RdRp del miembro tipo de distintas familias de virus de (-)ssRNA sugiere que BcNSRV-1 y los emaravirus podrían tener como ancestro común un virus de (in)vertebrados. Este es el primer micovirus de (-)ssRNA descrito infectando al hongo *B. cinerea*, y el primer micovirus de (-)ssRNA relacionado filogenéticamente con virus de plantas. MICINN AGL2009-11778.

ENDOTERAPIA CON PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS PARA EL CONTROL DE BACTERIOSIS DE CUARENTENA EN FRUTALES

Cabrefiga, J.¹, Barroso, J. M.², Montesinos, E.¹

¹Instituto de Tecnología Agroalimentaria-XaRTA-CIDSAV, Universidad de Girona, Campus de Montilivi, 17071 Girona. E-mail: jordi.cabrefiga@udg.edu

² Endoterapia Vegetal. C/ Ripollès, 23 - Pol. Ind. el Plà, 17486, Castelló d'Empúries, Girona. E-mail: jmanel@endoterapiavegetal.com

El undecapéptido antimicrobiano sintético BP100, desarrollado conjuntamente por el CIDSAV y LIPPSO de la Universidad de Girona, ha mostrado buena eficacia en el control de diversas bacteriosis causadas por bacterias fitopatógenas de cuarentena (*Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae*, *Xanthomonas fragariae* y *X. arboricola* pv. *pruni*). Sin embargo, la principal limitación de su uso práctico es su coste de síntesis. Por este motivo, es necesario diseñar estrategias para mejorar la eficacia del BP100 reduciendo la dosis de aplicación. En el presente trabajo se ha evaluado la aplicación del péptido mediante endoterapia (inyección) como una estrategia para reducir la cantidad de BP100 aplicada en dos bacteriosis modelo, causadas por *P. syringae* pv. *actinidiae* en kiwi y *X. arboricola* pv. *pruni* en el porta-injertos híbrido de melocotonero/almendro GF-677. Los resultados ponen de manifiesto que la aplicación de BP100 mediante endoterapia reduce la severidad de las infecciones causadas por ambos patógenos en plantas en maceta en condiciones controladas de invernadero. Además, se ha observado la misma eficacia en un amplio rango de dosis de péptido inyectado en la planta, obteniéndose un nivel de control efectivo con el péptido aplicado a 6,25 µM, en comparación con las dosis necesarias por pulverización (150-200 µM). Esta nueva estrategia de aplicación de BP100 permite reducir drásticamente la cantidad de péptido aplicada sin reducir la eficacia del tratamiento, con un menor impacto ambiental y abre la posibilidad de utilizar BP100 para el control de bacteriosis en agricultura en plantas leñosas. Aunque se dispone de diversos resultados que demuestran su baja toxicidad, son necesarios estudios sobre su cinética en la planta.

Project DROPSA UE.FP7-KBBE.2013.1.2-04 GA no: 613678.

COLLAR FUNGI ASSOCIATED WITH *Pinus pinaster* DECLINE IN THE IBERIAN PENINSULA

Prieto-Recio, C.¹, Roder, G.², Diez, J.J.¹

¹ Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid-INIA, Avda. Madrid 44, 34004, Palencia, Spain. cristina.prieto@pvs.uva.es

² Department of Land, Environment, Agriculture and Forestry, University of Padova, Agripolis, viale dell'Universita` 16, 35020 Legnaro, PD, Italy.

Pinus pinaster Ait. is one of the most important forest species in the Iberian Peninsula as regards both the protection it provides and the timber produced. It is also the main conifer species in Spain in terms of area covered. In recent years, several maritime pine stands in the centre of the Iberian Peninsula have undergone a general decline. The most important symptoms of the decline include unusually transparent foliage, smaller than usual needles, discolouration of foliage and premature death of the trees. A total of 212 samples of pine collar wood were collected from healthy, symptomatic and dead trees in 27 plots distributed throughout the region of Castilla y León (northern Spain). Identification of the fungi was based on preliminary macroscopic examination of the colony cultures, morphological characterization by microscopic examination and molecular analysis. Fifteen species were identified during the study and were divided into two distinct groups according to their ecology: (1) ubiquitous saprophytic species (six species) and (2) pathogens displaying different degrees of virulence (nine species). The latter species mainly belong to the group of Ophiostomatoid fungi: *Ophiostoma minus*, *O. ips*, *O. piliferum* and *O. ranaculosum*. The root pathogen *Heterobasidion annosum* was also identified. This pathogen is one of the main agents causing conifer death in Europe, but is a neophyte species in northern Spain, especially on *Pinus pinaster*. *Heterobasidion annosum* was found together with *Ophiostoma minus* and *O. piliferum*, and all were isolated in the same geographical zone. The sampling zone of Ribera del Duero in Burgos harboured the greatest number of fungal species and the zone with the fewest fungal species was in the province of Soria. Further assays testing the pathogenicity of these fungi should be performed in order to establish their importance as causal agents of the symptoms of decline.

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE MICOSIS FOLIARES EN CLONES DE *Populus x euramericana* y *P. x interamericana* EN LA VEGA DEL RÍO ESLA (LEÓN)

Crespo V.¹, Castedo-Dorado, F.¹, Campelo, M.P.¹, Marcos, M.F.², Lorenzana, A.¹

¹ Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Universidad de León, Avenida de Portugal 41, 24071 León, España. alorv@unileon.es

² Laboratorio de Diagnóstico de Plagas y Enfermedades Vegetales, Fundación Chicarro-Canseco-Banciella – E.S.T.I. Agraria, Universidad de León, Avenida de Portugal 41, 24071 León, España.

En las choperas existen numerosos organismos nocivos capaces de producir importantes daños. Un grupo de estos agentes nocivos lo constituyen las micosis foliares, destacando entre ellas la roya, originada por diferentes especies del género *Melampsora*. Otras especies fúngicas que suelen afectar a las hojas son *Drepanopeziza punctiformis*, *Mycosphaerella populi* y *Venturia populina*. El objetivo del presente estudio es determinar las diferencias en la incidencia y severidad de estas enfermedades en los clones de chopo ‘I-214’ (*Populus x euramericana*), ‘Beaupre’, ‘Raspalje’ y ‘Unal’ (*Populus x interamericana*). Para ello se muestrearon cuatro zonas muy próximas al margen del río Esla a su paso por la provincia de León, cuya altitud es ligeramente diferente: Villasabariego (795 m), Valencia de don Juan (745 m), Villamañán (745 m) y Cimanos de la Vega (715 m). En estas zonas, en tres parcelas de nueve árboles por cada clon, se determinó el porcentaje de superficie de las hojas afectada por las especies fúngicas citadas, tanto en la parte alta como en la baja de la copa. En relación a la roya, existen diferencias significativas entre los distintos clones para cada una de las zonas estudiadas. Así, el clon ‘Beaupre’ muestra el mayor grado de afección en las cuatro localizaciones, mientras que ‘I-214’ es el menos afectado. Por otro lado, este hongo aparece antes en las zonas de menor altitud, siendo éstas las que además presentan una mayor afección. Asimismo, existe una correlación positiva entre la severidad de la enfermedad en la parte baja y alta de la copa. Respecto al resto de especies fúngicas citadas, *D. punctiformis* y *V. populina* muestran una mayor severidad, significativamente, sobre el clon ‘I-214’; *M. populi* sólo presenta diferencias significativas entre clones en tres de las cuatro zonas de estudio, siendo un clon diferente en cada una de ellas el más afectado.

EPIDEMIOLOGIA DE *Candidatus Phytoplasma mali* CAUSANTE DE LA PROLIFERACIÓN DEL MANZANO EN EL PAÍS VASCO.

A.Batlle¹, J. Sabaté¹, A. Etxeandia², D.Berra², A.Laviña¹

¹ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Cra Cabrils Km 2, 08348 Cabrils, Barcelona

² Sanidad Vegetal. Laboratorio Agroambiental de Frisoro. 20159 Zizurkil, Gipuzkoa
e-mail: assumpcio.batlle@irta.es

La enfermedad de la proliferación del manzano o Apple proliferation (AP), causada por *Candidatus Phytoplasma mali*, produce graves daños económicos en los cultivos de manzano de toda Europa. Este fitoplasma se transmite por dos especies de psílidos: *Cacopsylla picta* y *C. melanoneura*. En el País vasco, la enfermedad está presente tanto en variedades de sidra como en variedades de mesa. Las variedades de sidra más afectadas son Goikoetxe, Mozolua y Verde agria. El fitoplasma también fue identificado en los cultivares Elstar, Belle de Boskoop y Reineta Gris. La incidencia de la enfermedad en las parcelas afectadas oscilaba entre el 20 y el 70%. En estudios previos, se habían identificado en el País vasco las dos especies de psílidos conocidos como vectores de este fitoplasma, siendo la población de *C. picta* más alta que la de *C. melanoneura*. Las dinámicas poblacionales mostraban dos picos, uno para los adultos remigrantes, el cual tenía lugar a principios de abril y otro para adultos jóvenes en junio. El mayor porcentaje de individuos portadores del fitoplasma (20%) tuvo lugar entre los remigrantes hibernales. El objetivo de este estudio ha sido determinar los huéspedes silvestres y especies refugio del fitoplasma y de los insectos vectores. Para este objetivo distintas plantas silvestres fueron analizadas para determinar la posible presencia del fitoplasma. Asimismo, se realizó un seguimiento de los vectores en especies silvestres y coníferas. Se analizaron muestras de *Crataegus*, *Cotoneaster*, *Pyracantha* y *Prunus spinosa*. Para la captura de insectos se colocaron trampas cromáticas en *Pinus radiata* y *Crataegus*. Los resultados obtenidos mostraron plantas de *Crataegus* infectadas por un fitoplasma del grupo 16Sr-X. Individuos de *C. melanoneura* fueron capturados en *P. radiata* a una distancia de la parcelas afectadas que oscilaba entre 0 y 33 Km, determinándose a esta conífera como refugio invernal del vector.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto INIA RTA2013-00097-00.

EFICACIA DE LA SOLARIZACIÓN PARA LA ELIMINACIÓN DE PATÓGENOS EN LOS SUSTRATOS UTILIZADOS EN LOS CULTIVOS SIN SUELOPérez, A.¹, Gómez, J.¹¹IFAPA. Centro La Mojonera. 04745, Almería. juliom.gomez@juntadeandalucia.es

Los diferentes sistemas de cultivo sin suelo son afectados por enfermedades causadas por varias especies de *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium*, que pueden sobrevivir en los sustratos durante un periodo prolongado de tiempo. Para disminuir sus daños en cultivos sucesivos es necesario cambiar los sustratos o desinfectarlos. La fibra de coco y la perlita pueden usarse durante varios años siempre que se mantenga útil su contenedor y que el conjunto pueda ser desinfectado eficazmente. El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia de la solarización para eliminar *P. aphanidermatum*, *F. oxysporum radialis-lycopersici* y *F. solani cucurbitae*. Para ello se realizó un experimento en un invernadero multitúnel con cubierta de polietileno situado en el Centro IFAPA-La Mojonera. El experimento se desarrolló en tres fases: La primera tuvo como objetivo la producción masiva y homogénea de plantas enfermas de pepino, calabacín y tomate en los diferentes sistemas de cultivo. Durante el verano y en la fase 2, se aplicaron los tratamientos de solarización. Y posteriormente en la fase 3 se realizó un nuevo cultivo para medir la eficacia de los tratamientos ensayados. Los diferentes sistemas se cubrieron o no con un film de polietileno durante 30 y 60 días. La eficacia se valoró analizando los porcentajes de plantas enfermas y mediante el estudio de las temperaturas registradas. Los resultados indicaron que *P. aphanidermatum* y *F. oxysporum* sobrevivieron durante el verano en el invernadero en los sustratos sin solarizar, mientras que *F. solani* no sobrevivió; así como la eficacia total de la solarización de los dos periodos para eliminar los tres patógenos en los cuatro sistemas ensayados. Las temperaturas máximas se situaron entre 46,4 y 55,5°C con media de 52,6°C, y las medias oscilaron entre los 34,8 y 48,1 con media de 45,2°C. Financiado por el proyecto PR.AVA.AVA201301.8., cofinanciado con fondos FEDER (UE).

CUCUMIS METULIFERUS ES RESISTENTE A POBLACIONES DE MELOIDOGYNE SPP, INCLUSO VIRULENTAS AL GEN MI.

Expósito, A.¹, López-Gómez, M.¹, Munera, M.¹, Giné, A.¹, Picó, B.², Gisbert, C.², Medina, V.^{3,4}, Sorribas, FJ.¹

¹Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels, Barcelona; E-mail: francesc.xavier.sorribas@upc.edu

² COMAV-UPV, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia

³ Grupo INPLAMICVEC. Departament de Producció Vegetal i Ciència Forestal, Universitat de Lleida; ⁴ AGROTECNIO Center, Universitat de Lleida

Se realizaron diversos ensayos para determinar la respuesta de *C. metuliferus* frente diversas poblaciones de *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*, algunas de las cuales habían sido ya caracterizadas como virulentas al gen de resistencia *Mi* en tomate. Los ensayos se llevaron a cabo en contenedores de 250 cm³ de capacidad. Las plantas se inocularon con 1 J2 cm⁻³ de suelo, y se mantuvieron en cámara climática a 25 °C de temperatura y 16:8 h de fotoperiodo (luz:oscuridad) hasta que el nematodo completó una generación. Se incluyó el cultivar de pepino Dasher II como testigo susceptible. Se determinó el número de masas de huevo, de huevos por planta y se calculó el índice de reproducción (número de huevos en *C. metuliferus*/número de huevos en Dasher II). Por otro lado, se llevó a cabo un ensayo adicional en invernadero, cuyo inóculo fueron poblaciones virulentas y avirulentas al gen *Mi*, en el que se incluyeron como testigos tomate susceptible injertado y sin injertar en Aligator, resistente al nematodo. Paralelamente, se están realizando estudios histopatológicos en *C. metuliferus* y en pepino cv. Dasher II.

Los ensayos en cámara climática mostraron la resistencia de las dos entradas de *C. metuliferus* ensayadas (MEBGV10762 y MEBGV11135) frente *M. incognita* y *M. javanica*, por lo que se seleccionó la entrada MEBGV11135 para los siguientes ensayos. El índice de reproducción de las poblaciones y especies de *Meloidogyne* en cámara climática osciló entre <1 y 8 %, incluyendo la población virulenta MJ27. En el ensayo en invernadero, *C. metuliferus* se comportó igualmente como resistente frente a la población avirulenta MJ05 (IR = 2,5%), como frente la virulenta y parcialmente virulenta MAA106 y MIA115 (IR =13 y 8%, respectivamente). El índice de reproducción de las poblaciones MJ05, MAA106 y MIA115 en Aligator fue de 2, 29 y 137%, respectivamente.

Agradecimientos al Ministerio de Economía y Competitividad por financiar el proyecto AGL2013-49040-C2-1-R

TOWARDS *Pepino mosaic virus* VIRION-LIKE PARTICLES PRODUCTION

Méndez-López, F.E.¹, Sempere, R.N.¹, Sánchez-Pina, M.A.¹, Valle, M.², Aranda, M.A.¹

¹ Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC), Departamento de Biología del Estrés y Patología Vegetal, PO Box 164, 30100 Espinardo, Murcia, Spain.

² Structural Biology Unit, Center for Cooperative Research in Biosciences, CIC bioGUNE, 48160 Derio, Spain.

We have described *Pepino mosaic virus* (PepMV; genus *Potexvirus*, family *Alphaflexiviridae*) particles at 3.9 Å resolution using electron cryomicroscopy (Agirrezabala *et al.*, 2015, eLIFE 4:e11795). The cryoEM map revealed a left-handed helix with a diameter of 130 Å and an inner narrow channel of 13 Å, with a pitch of 34.6 Å and 8.7 coat protein (CP) copies. The single stranded RNA runs in a helix of 70 Å and resides in a continuous groove with a high electropositive potential. The helical assembly of PepMV is also mediated by protein-protein interactions involving the CP N-terminal arm and C-terminal extension. The N-terminal arm establishes the main side-by-side contact in the helical arrangement, whereas the C-terminal extension builds the inner wall of the virus and creates a network of small and local interactions. No specificity in the ssRNA sequence is required to stabilize viral particles; still, expression in plants of the CP on its own did not result in the formation of virion-like particles (VLPs), whereas co-expression of CP with viral genomic RNA does, suggesting the existence of an origin of assembly (OAS). A 5'-deletion analysis of viral genomic RNA identified the OAS in the first 344 nucleotides. Tagged versions of PepMV expressing N-terminal GFP-CP fusions are viable (Sempere *et al.*, 2011, Plant Methods 7: 6), thus the VLPs described here have significant potential for epitope display in plants.

OPTIMIZACIÓN DE PROTOCOLOS DE DETECCIÓN DE *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* EN FRUTALES DE HUESO Y ALMENDRO

Peñalver, J., Navarro, I., López, M. M., Marco-Noales, E.

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Carretera CV-315, Km 10,7, 46113 - Moncada (Valencia). jpenal@ivia.es

La mancha bacteriana de los frutales de hueso, causada por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (Xap), produce pérdidas importantes en los cultivares más sensibles de frutales de hueso, almendro y ornamentales del género *Prunus*. En España, desde la primera detección en 2002 (Badajoz) se han erradicado brotes esporádicos en distintas provincias, pero persiste el riesgo de nuevas introducciones o de la diseminación del patógeno a través del material vegetal contaminado. Xap, considerado como un organismo de cuarentena en la Unión Europea, puede permanecer latente y transmitirse mediante el material vegetal de reproducción. Por ello, es fundamental disponer de métodos de detección sensibles y específicos, como PCR en tiempo real y Loop-mediated isothermal amplification (LAMP), tanto en programas de control sanitario de producción de material certificado en viveros como en programas de control de importaciones. Con este objetivo, se ha comparado la eficiencia de seis métodos de extracción de ADN previos a las técnicas moleculares con muestras de almendro, ciruelo japonés y melocotonero inoculadas con distintas concentraciones de la bacteria. Dichas muestras se analizaron mediante dos protocolos de PCR en tiempo real (Palacio-Bielsa *et al.*, 2011 y Garita-Cambronero *et al.*, 2014) con tres master mix y un protocolo LAMP (Bühlmann *et al.*, 2013). Con las combinaciones de los métodos de extracción y protocolos de PCR se llegó a alcanzar un límite de detección de 1-10 ufc/ml en las tres especies. Posteriormente, las combinaciones seleccionadas se ensayaron en muestras asintomáticas naturalmente infectadas de diferentes huéspedes y orígenes. Se encontraron diferencias significativas en la cantidad de muestras Xap positivas, lo que confirma la necesidad de emplear protocolos optimizados para la detección de Xap en material asintomático.

PEST ORGANISMS THREATENING EUROPE: POnTE

The POnTE Consortium: CNR, UNIBA, INRA, ANSES, IVIA, CSIC, SG SASA, FORESTRY RES. AG., BFW, LUKE, WAGENINGEN UNIV., UNIV. OF COSTA RICA, ARO VOLCANI CENTER, BELGRADE UNIV., CERTIS EUR., AUREA IMAGING, VILMORIN, LOEWE, PRC, ACLI RACALE, AGRITEST, CITOLIVA, AGRICOLA VILLENA, A.L. TOZER, UNITO, CRSFA, UNIV. OF HELSINKY

The POnTE project was funded under the H2020-SFS-2014-2015 Sustainable Food Security call (Topic SFS-03a-2014: Native and alien pests in agriculture and forestry). POnTE focuses to minimize the risk of introduction/impact of emerging pests threatening EU agriculture and forestry. The target pathogens are: 1) *Xylella fastidiosa* and its vectors in olive, grapevine, citrus, stone fruit, ornamentals and landscape trees of high socio-economic importance; 2) ‘*Ca. Liberibacter solanacearum*’ and its vectors affecting a number of strategic crops such as potato, tomato and carrot; and 3) *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (anamorph. *Chalara fraxinea*) and *Phytophthora* spp. seriously affecting broadleaf and conifer species in forest ecosystems. Targeted pests, their vectors and the host response will be explored using innovative approaches (NGS, transcriptomic). Diseases surveillance and epidemiology given by current methods will integrate improved survey protocols and remote sensing. Innovative IPM will include studies of microbiome to develop sustainable solutions in line with the EU plant health legislation. New knowledge gained with POnTE will result in an outcome-based pest prevention and management work plan to: a) implement area-wide pest risk assessments; b) prevent the entry and develop surveillance and early detection tools (diagnostic kits, lab-on-chip, new biomarkers); c) mitigate the spread and reduce the socio-economic impact; d) IPM based on disease resistance, disease-free seeds, cultural practices and physical environmentally-friendly treatments; e) support knowledge-based decision-making policies at EU level. The proposal fosters and promotes a multi-actor approach and transnational research collaborations among 25 Partners at the forefront of research in plant protection, agro-engineering and economics. It involves key industries/SMEs that develop diagnostic kits and services, agrochemical and seed companies, stakeholder groups. End-users will participate in the development of the project and immediately implement the practical solutions derived from the outcomes to solve these serious emerging diseases.

ESPECIES DE *Bursaphelenchus* sp EN CONÍFERAS DE LA REGIÓN DE CASTILLA Y LEÓN.

Zamora, P.^{1,2}; Sanz-Ros, A. V.^{1,2}; Dueñas, M.^{1,2}; Miranda, J.^{1,2}; Álvarez, B.^{1,2}; González, A.^{1,2}; Mayor, E.^{1,2}; Dominguez, J. C.²; Pérez, G.²; Martín, A. B.²; Renedo, F.³; Rodríguez, V.³

¹TRAGSA. Teófilo Ortega, 7-9. 34004 Palencia. España

²Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Dirección General del Medio Natural. Consejería de Fomento y Medio Ambiente. Junta de Castilla y León. Polígono Industrial de Villamuriel de Cerrato, s/n. 34190 Palencia. España.

³Servicio de Defensa del Medio Natural. Dirección General del Medio Natural. Consejería de Fomento y Medio Ambiente. Junta de Castilla y León. C/ Rigoberto Cortejoso, 14. 47014 Valladolid. España.

Entre los años 2009 y 2015 se han realizado cuantiosos muestreos sobre distintas especies de coníferas en Castilla y León, en cumplimiento del Plan de Contingencia Nacional para el nematodo de la madera del pino, *Bursaphelenchus xylophilus*. Además de la detección de un primer foco de este organismo de cuarentena en diciembre de 2013 en esta región, durante los trabajos de prospección, muestreo y análisis de las 15.216 muestras vegetales recogidas en campo, se han podido identificar otras especies del género *Bursaphelenchus* en 1.656 de ellas, en más de un 98% de los casos asociadas a árboles en proceso de decaimiento, en concreto: *B. pinasteri*, *B. leoni*, *B. sexdentati*, *B. teratospicularis*, *B. vallesianus*, *B. tusciae*, *B. antoniae*, *B. hildegardae*, *B. idius*, *B. chitwoodi* y *B. mucronatus*. En algunas ocasiones se encontraron individuos del género que no pudieron ser identificados morfológicamente a nivel de especie (44 muestras del total).

Bursaphelenchus pinasteri ha resultado ser la especie más frecuente (apareció en 1.254 muestras), encontrándose en muestras de madera de *Pinus nigra* (*Pn*), *P. pinea* (*Ppn*), *P. pinaster* (*Ppr*), *P. radiata* (*Pr*) y *P. sylvestris* (*Ps*). Este nematodo se ha encontrado en toda la Comunidad de Castilla y León y parece estar asociado a pinos en decaimiento. Algunas especies de *Bursaphelenchus* fueron relativamente frecuentes en madera de distintas especies de pinos: *B. leoni* (en 109 muestras de *Pn*, *Ppr*, *Ppn*, *Pr* y *Ps*), *B. sexdentati* (en 83 muestras de *Pn*, *Ppn*, *Ppr*, *Pr* y *Ps*), *B. teratospicularis* (en 66 muestras en *P. halepensis-Ph-*, *Ppn*, *Ppr*, *Pr* y *Ps*) y *B. vallesianus* (en 58 muestras en *Pn*, *Ppn*, *Ppr*, *Ps* y *P. uncinata-Pu-*) Con una frecuencia menor fueron encontrados *B. tusciae* (en 17 muestras en *Ppr* y *Ps*), *B. antoniae* (en 13 muestras en *Pn*, *Ppr*, *Ps* y *Pu*), *B. hildegardae* (en 6 muestras *Pn*, *Ppr* y *Ps*), *B. idius* (en 4 muestras en *Ppr*), mientras que *B. mucronatus* (*Ps*) y *B. chitwoodi* (*Ppr*) fueron detectados puntualmente en una muestra cada uno.

Resulta especialmente interesante la abundancia de muestras con especies de *Bursaphelenchus* localizadas en los muestreos sobre pinares con síntomas de decaimiento. Este incremento se debe fundamentalmente al incremento de los trabajos desarrollados en los años 2014 y 2015, en los que las prospecciones y muestreos en pinos de estas características han aumentado sustancialmente.

XVIII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología, 20-23 Septiembre 2016, Palencia

PROSPECCIONES DE HUANGLONGBING DE LOS CÍTRICOS (HLB) EN ESPAÑA: ANÁLISIS DE MATERIAL VEGETAL Y DEL VECTOR *Trioza erytreae*

Siverio, F.¹, Marco-Noales, E.², Bertolini, E.^{2,3}, Teresani, G.R.^{2,4}, Peñalver, J.², Mansilla, P.⁵, Aguín, O.⁵, Pérez-Otero, R.⁵, Abelleira, A.⁵, Guerra-García, J.A.⁶, Hernández, E.¹, Cambra, M.², López, M.M.²

¹ Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). 38270 La Laguna (Tenerife). fsivros@gobiernodecanarias.org

² Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), 46113 Moncada (Valencia).

³ Faculdade de Agronomia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). 91540-000 Porto Alegre, Brasil.

⁴ APTA-IAC, C.P.D. Fitossanidade, 13020-902, Campinas, Brasil.

⁵ Estación Fitopatológica de Areiro, Deputación Pontevedra. 36156 Pontevedra.

⁶ Gestión del Medio Rural de Canarias SAU. 38110 Santa Cruz de Tenerife.

La enfermedad denominada huanglongbing (HLB), asociada a tres especies de ‘*Candidatus Liberibacter*’ (africanus, americanus y asiaticus), está actualmente considerada como la más devastadora de los cítricos, pero no está presente en el área mediterránea. La detección, en 2002, del psílido vector *Trioza erytreae* en Canarias, en distintas especies de cítricos, y en 2014 en Galicia y norte de Portugal, principalmente en limoneros, llevó a la adopción de un plan nacional de contingencia. En las prospecciones realizadas en Canarias desde 2009 hasta 2015 se observaron daños causados por el psílido en la mayoría de parcelas de naranjo dulce (94,65%) inspeccionadas en Gran Canaria, El Hierro, La Gomera, La Palma y Tenerife, mientras que en Lanzarote, Fuerteventura y La Graciosa no se observaron. En Galicia, las prospecciones efectuadas desde 2014 revelaron que un 65,91% de los árboles inspeccionados en Pontevedra y La Coruña presentaban daños de *T. erytreae*. Tanto en Canarias como en Galicia se tomaron 10 hojas por árbol de árboles con síntomas sospechosos de HLB y asintomáticos, y también psílicos adultos. Muestras de 5.296 árboles y 1.569 insectos se procesaron mediante impresión y eschado, respectivamente, en membrana, y posterior PCR en tiempo real utilizando un estuche de diagnóstico universal de ‘*Ca. Liberibacter*’ spp., según el protocolo EPPO. También se analizaron 1.866 muestras de otras C.C. A.A. libres del vector. En todos los casos, las escasas muestras positivas con los iniciadores universales de ‘*Ca. Liberibacter*’ spp. (0,62%) se analizaron con iniciadores específicos de los tres agentes de HLB y resultaron negativas. Estos resultados sugieren que los cítricos de las zonas analizadas están actualmente libres de las especies de ‘*Ca. Liberibacter*’ asociadas a HLB. Para mantener este estatus, se requieren no solo inspecciones visuales oficiales y análisis periódicos, sino también la aplicación rigurosa del plan de contingencia en las distintas C.C. A.A.

ESPECIES DE *Bursaphelenchus Sp* DETECTADAS EN MADERA DE CONÍFERAS PROCEDENTE DE INSPECCIONES EN INDUSTRIAS E INSPECCIONES EN MERCANCÍAS TRANSPORTADAS POR CARRETERA

Zamora, P.^{1,2}; Sanz-Ros, A. V.^{1,2}; Dueñas, M.^{1,2}; Miranda, J.^{1,2}; Álvarez, B.^{1,2}; González, A.^{1,2}; Mayor, E.^{1,2}; Dominguez, J. C.²; Pérez, G.²; Martín, A. B.²; Renedo, F.³; Rodríguez, V.³

¹TRAGSA. Teófilo Ortega, 7-9. 34004 Palencia. España

²Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Dirección General del Medio Natural. Consejería de Fomento y Medio Ambiente. Junta de Castilla y León. Polígono Industrial de Villamuriel de Cerrato, s/n. 34190 Palencia. España.

³Servicio de Defensa del Medio Natural. Dirección General del Medio Natural. Consejería de Fomento y Medio Ambiente. Junta de Castilla y León. C/ Rigoberto Cortejoso, 14. 47014 Valladolid. España.

Entre los años 2009 y 2015 se han recogido un total de 2892 muestras de madera de coníferas, procedentes de inspecciones oficiales a industrias de la madera (2038 muestras) y a mercancías transportadas por carretera (791 muestras), que han sido analizadas para la detección del nematodo de la madera del pino, *Bursaphelenchus xylophilus*.

En los controles de carretera se detectó al género *Bursaphelenchus* en 23 de las muestras recogidas: en 8 muestras sobre madera de embalaje y estiba, en 8 muestras sobre madera en forma de tabla o tablón y en 7 muestras sobre corteza de pino, procedentes siempre de la zona demarcada de Portugal. En estas muestras se detectaron las especies *Bursaphelenchus xylophilus* (1 muestra en madera de embalaje, 6 en tabla y 2 en corteza), *B. mucronatus* (2 muestras en madera de embalaje), *B. antoniae* (2 muestras en madera de embalaje), *B. pinasteri* y *B. tusciae* (1 muestra en embalaje cada una) y *B. teratospicularis* (1 muestra de corteza). Además, fueron detectadas 7 muestras más con alguna especie del género *Bursaphelenchus* que no se pudo clasificar morfológicamente hasta el nivel de especie, aunque sí fueron descartadas como *B. xylophilus* por no presentar las características típicas del Grupo *Xylophilus*.

En industrias de la madera con especies de coníferas se detectó al género *Bursaphelenchus* en 92 muestras. De éstas, 23 resultaron portadoras de *Bursaphelenchus xylophilus*, todas procedentes de madera de Portugal, 19 de las cuales pertenecían a diferentes lotes de madera encontrados en una única inspección a una industria en el año 2010. Otras 3 muestras con *Bursaphelenchus sp* fueron encontradas en madera aserrada procedente también de Portugal. *Bursaphelenchus sp* se identificó también en 14 muestras sobre madera en rollo y 9 muestras sobre tabla, de diversas procedencias nacionales. Además se identificó *B. mucronatus* en 13 muestras procedentes de España, Centro Europa y Turquía tanto en embalaje como en madera aserrada y en rollo. En madera de origen nacional se identificaron también las especies *B. pinasteri* (9 muestras), *B. sexdentati* (7), *B. antoniae* (5), *B. leoni* (4), *B. vallesianus* (4), *B. teratospicularis* (2) y *B. tusciae* (2). *B. pinasteri*, *B. sexdentati* y *B. antoniae* fueron identificados en muestras tanto sobre madera aserrada como sobre madera en rollo, mientras que las especies restantes se recogieron sobre madera en rollo.

ACTIVIDAD DE UN LIOFILIZADO DE ESPÁRRAGO FRENTE A OOMICETOS ASOCIADOS CON EL DECAIMIENTO DEL ARBOLADO DE LA DEHESA

Basallote-Ureba¹, M. J., Rodríguez-Arcos, R²., Barrau García, C¹.

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

²Instituto de la Grasa, Departamento de Fitoquímica de Alimentos. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Apartado 1078 Sevilla.

El decaimiento del arbolado es el mayor problema fitopatológico de la dehesa en España. Se asocia a diversas causas entre ellas a la podredumbre radical ocasionada por los oomicetos *Phytophthora cinnamomi* y *Pythium* spp. El espárrago Morado de Hueter es una importante fuente de flavonoides. Dichos compuestos tienen una amplia actividad biocida sobre diferentes patógenos de suelo.

En este trabajo presentamos los resultados obtenidos al desarrollar los patógenos anteriormente mencionados en medio APD enmendado con un extracto liofilizado, y parcialmente purificado, procedente de turiones de espárrago (LTE). La dosis de LTE utilizada en tres experimentos fue de 0,1%. La enmienda se aportó antes y después de esterilizar el medio de cultivo. En el centro de cada placa se sembró un disco de 5 mm de un cultivo del oomiceto en crecimiento activo. Las placas (cinco por cada tratamiento y patógeno) se incubaron en oscuridad a 25°C durante 10 días. Como control se incluyeron placas con APD sin enmendar de cada uno de los oomicetos. Diariamente se midieron los diámetros menor y mayor de las colonias. En los dos primeros experimentos se incluyeron dos aislados procedentes de encina, uno de *P. cinnamomi* y otro de *Pythium* sp. Y en el tercer experimento se han incluido cinco de *P. cinnamomi* y un aislado de *Py. spiculum*, proporcionados por el CICYTEX y del Departamento de Patología Agroforestal de la Universidad de Córdoba.

La efectividad de la enmienda con LTE se demostró consistentemente por la inhibición del crecimiento miceliar de todos los aislados evaluados que fue de ca. del 100% respecto del testigo no enmendado. No se observaron diferencias en los resultados obtenidos con el medio enmendado antes y después de esterilizar.

Financiación: INIA RTA2014-00063-C04-01 y fondos Feder 2014-2020: "Programa operativo de crecimiento inteligente".

FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO, ESPORULACIÓN Y TRANSFERENCIA DE CHV1 EN AISLADOS DE *Cryphonectria parasitica* DE CASTILLA Y LEÓN.

Zamora, P.^{1,3,4}; González A.^{1,3}; Dueñas, M.¹; San Martín, R.^{2,4}; Díez, J. J.^{3,4}

¹Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Consejería de Fomento y Medio Ambiente. JCyL. Polígono de Villamuriel.34190 Villamuriel de Cerrato. Palencia. España. Asistencia técnica Tragsa.

²Departamento de Estadística ETSIIAA Palencia. U. De Valladolid. Avda. Madrid 57. 34004 Palencia. España.

³Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. ETSIIAA Palencia. U. De Valladolid. Avda. Madrid, 57. 34004 Palencia. España.

⁴Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid – INIA, Avda. Madrid 57, 34004 Palencia, Spain

El impacto del chancro del castaño en Europa se ha visto reducido gracias al control biológico mediante el empleo de aislados de *Cryphonectria parasitica* infectados con el virus CHV1. Este virus reduce la virulencia del hongo de forma que los chancros que produce no son letales permitiendo con ello a los castaños recuperarse de la infección. CHV1 se transmite horizontalmente vía anastomosis hifal y verticalmente a través de los conidios. En este trabajo, se analizó el crecimiento y esporulación del hongo así como la transmisión horizontal del virus entre aislados compatibles. Para los ensayos se emplearon aislados de *C. parasitica* de los tipos de compatibilidad vegetativa más extendidos en Castilla y León. Los aislados hipovirulentos se consiguieron mediante la transmisión horizontal de los subtipos de hipovirus CHV1- F1 y CHV1-I en los mismos aislados virulentos de partida. Los ensayos de crecimiento y transmisión horizontal se realizaron a 15 y 25°C para observar posibles diferencias bajo estas condiciones de temperatura. Como resultado se observó que el crecimiento de las colonias estaba influido por la interacción entre el tipo de compatibilidad vegetativa y el virus tanto a 15°C como a 25°C. Sin embargo, la transmisión horizontal del virus solo se ve influenciada por el tipo de compatibilidad vegetativa y la producción de esporas por el subtipo de hipovirus. El genotipo del hongo afecta al crecimiento de las colonias y a la transmisión horizontal de virus, por lo que la selección de un aislado fúngico y el tipo de hipovirus adecuado es importante ya que pueden influir en la prevalencia de la hipovirulencia tras un tratamiento de control biológico.

PHOSPHITE DELAYS THE PROGRESSION OF *FUSARIUM CIRCINATUM* ON *PINUS RADIATA*: A PHYSIOLOGICAL APPROACH

Cerqueira A1; Amaral J1, Alves A1, Berenguer H1, Correia B1, Monteiro P1, Diez, J.J2, Pinto G1

1 Department of Biology & CESAM – Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal; gpinto@ua.pt; 2 Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid - INIA, Avenida de Madrid 44, Palencia, Spain

Pine pitch canker, caused by the fungus *Fusarium circinatum*, is an introduced non-native pine disease in natural and planted stands of Europe subject to quarantine measures. It is a highly virulent pathogen that damages *Pinus* and *Pseudotsuga* spp., also causing damping-off in nurseries.

Exploring host-pathogen interactions and testing environmental-friendly strategies to control forest threats is a keystone to assure a sustainable forest sector. Phosphite (Phi) is currently used as fertiliser, fungicide, and elicitor of plant resistance. Phi has been successfully used to protect crops but its potential application in forest species to control biotic threats is less explored. In this study, we tested the effects of foliar application of KPhi (0%, 1% and 4%) in *Pinus radiata* seedlings non-inoculated and inoculated with *Fusarium circinatum*. Survival and physiological parameters (water potential, gas exchange and photochemical performance, pigments, lipid peroxidation, proline and carbohydrates) were assessed. The fungi were also grown in vitro in PDA medium containing the same Phi concentrations in order to evaluate mycelial growth inhibition. Results showed that Phi application delayed disease symptoms in a dose dependent manner similarly to what was observed in mycelial growth inhibition during in vitro assays. Moreover, plants adjusted their physiological status in order to cope with the pathogenic agent depending on the pre-treatment with Phi. Our results indicate that Phi may represent a valuable tool to control pathogenic forest diseases, although further research is needed to the decipher mechanism of action of both plant-elicitor-plant-pathogen interaction.

Acknowledgments: This research was supported by: Fundos Europeus Estruturais e de Investimento (FEEI), FEDER, COMPETE 2020 and National Funds through the Portuguese Foundation for Science and Technology (FCT): URGENTpine (PTDC/AGR-FOR/2768/2014).

VARIATION IN PATHOGENICITY AMONG THE *Phytophthora alni* COMPLEX ON DETACHED LEAVES, TWIGS AND BRANCHES OF *Alnus glutinosa*

Haque, M.M.U.¹, Martín-García, J.¹, Zamora-Ballesteros, C.¹, Díez, J.J.¹

¹ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible, Universidad de Valladolid – INIA, Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, España. jorgemg@pvs.uva.es

Recently, substantial declines in alder stands have occurred along streams in Europe. A major driver has been the invasive oomycete pathogen *Phytophthora alni* species complex, which can spread rapidly along stream networks. Pathogenicity tests *in vitro* were carried out on leaves, twigs and branches of *Alnus glutinosa* using three Spanish isolates of *Phytophthora xalni* and three French isolates of the *Phytophthora alni* complex (*Phytophthora xalni*, *P. xmultiformis* and *P. uniformis*). Healthy fresh leaves were collected from disease-free areas and inoculated with mycelium on V8 agar discs or by dipping in zoospore suspensions. In addition, twigs and branches were collected from both disease-free and disease-affected areas, inoculated with mycelium on V8 agar discs and incubated at four temperatures (15, 20, 25, 30°C). All species tested were pathogenic but with varied level of virulence. In inoculation tests on foliage, wounding was a key factor in causing infections showing larger lesions than non-wounded leaves. The study is the first to report foliar necrosis caused by *Phytophthora alni* complex on *A. glutinosa*. In the twig and branch inoculation tests, no differences in virulence were observed among the *P. alni* complex in terms of sampling locations, but lesions differed in size according to incubation temperature, with the largest lesions occurring at 25°C. *P. uniformis* was the least virulent of the three species in branch inoculations. These findings demonstrate the vulnerability of various tissues of *A. glutinosa* that could be sources of inoculum which may passively transmit *P. alni* complex to natural ecosystems or new plantation sites via contaminated alder seedlings.

COST ACTION FP1406: PINE PITCH CANKER - STRATEGIES FOR MANAGEMENT OF *Gibberella circinata* IN GREENHOUSES AND FORESTS (PINESTRENGTH)

Martín-García, J.^{1,2}, Woodward, S.³, Ioos, R.⁴, Vainio, E.⁵, Vasaitis, R.⁶, Fernández, M.^{1,7}, Hantula, J.⁸, Capretti, P.⁹, Vettraiño, A.M.⁹, Raposo, R.¹⁰, Vannini, A.⁹, Dogmus, T.¹¹, Alves, A.¹², Vasic, V.¹³, Vasconcelos, M.¹⁴, Diez, J.J.^{1,2}

¹ Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid-INIA, Avda. Madrid 44, Building E, 34004, Palencia, Spain.

² Department of Vegetal Production and Forest Resources, Higher Technical School of Agrarian Engineering, University of Valladolid, Avda. Madrid, s/n, 34004 Palencia, Spain.

³ Department of Plant and Soil Science, Institute of Biological and Environmental Sciences, University of Aberdeen, Aberdeen, UK.

⁴ ANSES. Laboratoire de la Santé des Végétaux, Unité de Mycologie. Domaine de Pixérécourt, Bât. E 54220 Malzéville, France.

⁵ Vantaa Research Unit, Finnish Forest Research Institute, PO Box 18, 01301 Vantaa, Finland

⁶ Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7026, SE-75007, Uppsala, Sweden.

⁷ Department of Agroforestry Sciences, Higher Technical School of Agrarian Engineering, University of Valladolid, Avda. Madrid, s/n, 34004 Palencia, Spain

⁸ Department of Agri-Food Production and Environmental Sciences, University of Firenze, P.le delle Cascine 28, I-50144 Firenze, Italy

⁹ DIBAF, University of Tuscia, Viterbo, Italy

¹⁰ The Spanish National Institute for Agricultural and Food Research and Technology (INIA). C. Coruña km 7.5. 28040 Madrid, Spain

¹¹ Suleyman Demirel University. Faculty of Forestry. Department of Forest Protection. TR32260 Isparta, Turkey

¹² Department of Biology, CESAM, Aveiro University, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal

¹³ Institute of Lowland Forestry and Environment. Antona Cehova 13, 21000 Novi Sad, Serbia

¹⁴ Escola Superior de Biotecnologia. Rua Arquitecto Lobão Vital. Apartado 2511 EC. 4202-401 Porto, Portugal

E-mail: jdcasero@pvs.uva.es

Fusarium circinatum (teleomorph: *Gibberella circinata*) was first detected in North America, since when the pathogen has spread into Central and South America, South Africa, Asia and, more recently, Europe. *F. circinatum* is now considered the most important pathogen affecting *Pinus* seedlings and mature trees in many countries globally; asymptomatic seedlings may be planted out, resulting in very serious losses in forests. The main aim of PINESTRENGTH is to establish a European-focused network to increase knowledge of the biology, ecology and pathways of spread of *F. circinatum*, to examine the potential for the development of effective and environmentally-friendly prevention and mitigation strategies and to deliver these outcomes to stakeholders and policy makers. To that end, a multidisciplinary approach is being taken, including researchers, forest managers and policy makers from 35 countries to date. Furthermore, any interested party is encouraged to join this COST Action, participating in some of the six Working Groups (WG1 The pathogen-diagnosis, WG2 Interactions with other forest pests and pathogens, WG3 Pathway of disease spread, WG4 Pest risk analyses, WG5 Management of the disease in forest and nurseries and WG6 Coordination, identifying research gaps and dissemination). For further information, please check <http://www.pinestrength.eu/>.

CONTROL INTEGRADO (BIOLÓGICO Y QUÍMICO) DE LA PODREDUMBRE BLANCA EN AGUACATE

Arjona-López, J.M.¹, Tienda, S.², Arjona-Girona, I.¹, Cazorla, F.M.² y López-Herrera, C.J.¹

¹ Departamento de Protección de Cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible, C.S.I.C. C/Alameda del Obispo s/n, Apartado 4084, Córdoba. E-mail: lherrera@ias.csic.es

² Instituto de Horticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, España.

El objetivo de este trabajo es determinar la dosis mínima del fungicida Fluazinam (FZ) combinado con rizobacterias para un control eficaz de la podredumbre blanca del aguacate causada por *Rosellinia necatrix*.

Preliminarmente se ha evaluado in vitro el efecto de FZ (0; 0,01; 0,05; 0,1 y 0,5 mg/L), sobre el crecimiento de nueve aislados de *R. necatrix* y sobre tres cepas bacterianas, *Pseudomonas chlororaphis* (PCL1601 y PCL 1606) y *Bacillus subtilis* (PCL1608). Posteriormente, se ha estudiado el efecto combinado de FZ con las tres cepas bacterianas sobre el crecimiento in vitro de los nueve aislados de *R. necatrix*, mediante cultivos bacterianos en placas de Petri con, PDA + FZ a distintas dosis, y celofán.

Fluazinam no produce halo de inhibición sobre crecimiento bacteriano in vitro a ninguna de las dosis ensayadas y a dosis superiores a 0,05 mg/L comienza a inhibir el crecimiento in vitro de los aislados de *R. necatrix*. En el efecto in vitro combinado de FZ + rizobacterias sobre el patógeno, la cepa PCL1606 produce una alta inhibición de los aislados fúngicos independiente de la adición de FZ, la cepa PCL1601 produce una baja inhibición, aumentando con adición de FZ a dosis de 0,05 mg/L pero sin llegar a la eficacia de Fluazinam a la misma dosis, y la cepa PCL1608 produce una alta inhibición, descendiendo ésta cuando se combina con dosis del fungicida a 0,05 mg/L. Actualmente se están finalizando los ensayos de biocontrol de la enfermedad en plantas de aguacate inoculadas previamente con dos aislados del patógeno, y aplicando a suelo combinaciones de PCL1601+ FZ a dosis 10 y 100 veces más bajas (0,01% y 0,001%) de las recomendada (0,1%) en el control de la PB, para concluir el objetivo del trabajo antes citado.

IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A METALES PESADOS EN UN PLÁSMIDO CONJUGATIVO MULTIRRESISTENCIA

Echeverría, M., Bardaji, L., Murillo, J.

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

El cobre es uno de los pocos productos fitosanitarios disponibles para el manejo efectivo de las bacteriosis, aunque en diversos países se utilizan con éxito diversos antibióticos, como la estreptomina. En trabajos previos en nuestro laboratorio, hemos identificado un plásmido (pE800) de aprox. 270 kb que se transfiere con muy alta frecuencia (10^{-1} por receptor) entre cepas de *P. syringae*, que posiblemente proviene de bacterias ambientales y que confiere resistencia a distintos metales pesados, incluyendo el cobre, y a estreptomina. Mediante mutagénesis dirigida y ensayos de complementación, hemos determinado que los genes *traG* y *traU* son esenciales para la transferencia del plásmido, demostrando que la transferencia entre bacterias se produce mediante conjugación. Para identificar los genes implicados en la resistencia a metales pesados, hemos realizado una mutagénesis al azar de una bacteria portadora de pE800 con el transposón IS- Ω -Km/hah; los clones mutantes se recogieron en masa y se utilizaron como donadores en conjugación con la cepa *P. syringae* pv. phaseolicola UPN969 (Gm^R). Hemos identificado 60 mutantes sensibles a cobre que definen una región continua de 15 kb presente en diversas especies de pseudomonas ambientales y similar a la región *cus-cop* de *P. putida* KT440. Igualmente, se han aislado 30 mutantes sensibles a arsénico que se distribuyen en una región de 5 kb, inmediatamente adyacente a la región de resistencia a cobre, y que también aparece en diversas especies de pseudomonas ambientales. Los genes identificados por mutación se corresponden en su mayoría con genes previamente relacionados con resistencia a metales pesados, junto con diversos genes accesorios. Los análisis comparativos y la filogenia de esta secuencia indican que es un invasor reciente de *P. syringae*, aunque tiene un potencial muy alto de diseminación.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2014-53242-C2-1-R y AGL2014-53242-C2-2-R del MINECO (cofinanciados por FEDER).

INCIDENCIA DE LA ENFERMEDAD DE LA PROLIFERACIÓN DEL MANZANO EN POMARADAS DE SIDRA DE ASTURIAS

Aitor Somoano^{1,2}, Jordi Sabaté², Marcos Miñarro¹, Amparo Laviña², Assumpció Batlle², Enrique Dapena¹

¹SERIDA, Programa de Fruticultura, Carretera de Oviedo s/n, 33300 Villaviciosa, Asturias. edapena@serida.org

²IRTA- Cabrils. Patología. Protección Vegetal Sostenible. Ctra. de Cabrils, Km 2, E-08348 Cabrils (Barcelona)

La proliferación del manzano es una grave enfermedad inducida por *Candidatus Phytoplasma mali* cuyos síntomas son cada vez más frecuentes en plantaciones de manzano de Asturias, aunque no hay estudios epidemiológicos previos. Para determinar la distribución y el nivel de incidencia de esta enfermedad, se evaluó la presencia de “escobas de bruja”, síntoma característico de hiperproliferación de los brotes, en 74 pomaradas de 31 municipios asturianos con el objetivo de cubrir toda el área de distribución del cultivo del manzano. La presencia del fitoplasma en brotes sintomáticos fue verificada mediante PCR a tiempo real con cebadores y sondas específicos y, a partir de estas muestras, se ha estudiado la variabilidad genética mediante la secuenciación del gen *Imp*, el cual codifica para una proteína de membrana. En cada plantación se muestreó la presencia de brotes sintomáticos en 40 árboles, utilizando una escala de 0 a 3, se determinó la incidencia, como el porcentaje de árboles afectados. Se observaron síntomas de proliferación en 61 parcelas (82,4 %), distribuidas en los 31 municipios. El porcentaje de árboles afectados por parcela fluctuó entre el 2,5 y el 47,5 %, con una incidencia media (\pm SE) de $12,4 \pm 1,3$. Se concluye que la proliferación es una enfermedad ampliamente establecida en toda la zona productora de manzana de sidra de Asturias, con una incidencia relativamente importante en la mayoría de las plantaciones, siendo menor en las plantaciones más jóvenes (1 a 4 años).

Trabajo financiado por INIA y FEDER (proyecto RTA2013-00097-00-00).

LA SOBREEXPRESIÓN DE LA GLUTAREDOXINA CHGRXS12 DIRIGIDA AL CLOROPLASTO O EL NÚCLEO Y CITOPLASMA AMPLIFICA EL FENOTIPO DE RECUPERACIÓN DE LAS PLANTAS DE N. BENTHAMIANA INFECTADAS CON LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO.

S.K.R. Mariyapan, I. Garcia-Luque y M.T. Serra.
CIB. CSIC. Ramiro de Maeztu 13 28040 Madrid

En las plantas infectadas por la cepa italiana del virus del moteado suave del pimiento se produce una recuperación en los últimos estadios de la infección viral, respuesta que se ve amplificada con la expresión constitutiva de la glutaredoxina ChGrxS12 dirigida al cloroplasto o al núcleo.

En estas plantas hemos determinado que el NADH es un buen marcador de la infección viral y se presentarán datos sobre la acumulación de los mRNAs asociados al metabolismo del glutatión y a su contenido.

LA RECUPERACIÓN DE PLANTAS DE *N. Benthamiana* INFECTADAS CON LA CEPA ITALIANA DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO VA ASOCIADA PRESUNTAMENTE AL ÁCIDO SALICILICO Y A UN ESTADO DE DEFENSA ANTIVIRAL FRENTE A VIRUS HOMÓLOGOS Y HETERÓLOGOS.

F. Tena-Fernández, M.T. Serra e I. García.Luque
CIB. CSIC. C/ Ramiro de Maeztu nº 13 28040 Madrid

Las plantas de *N. benthamiana* infectadas con la cepa italiana del virus del moteado suave del pimiento sufren en los últimos estadios de la infección viral un proceso de recuperación que está presumiblemente asociado al ácido salicílico.

En las regiones recuperadas hemos detectado un efecto protector frente a la infección de virus homólogos y heterólogos que descartan que sea un mecanismo de silenciamiento posttranscripcional.

Se presentarán datos sobre la influencia del ácido salicílico sobre el mecanismo de recuperación.

LA CEPA H DEL VIRUS DEL MOTEADO SUAVE DE LA PÁPRIKA ES CAPAZ DE INFECTAR PLANTAS DE TOMATE Y SU INFECCIÓN SE VE AFECTADA EN CONDICIONES DE SEQUIA RESPECTO AL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO.

A. Bonilla-Martínez, J. M. Becedas, S. Arana-Peña, F. Ortego e I. Garcia-Luque

Hemos determinado la secuencia nucleotídica de PaMMoV-H y establecido que posee un porcentaje de identidad del 98% con la cepa japonesa.

A diferencia de lo anteriormente descrito es capaz de infectar plantas de tomate, si bien la infectividad se ve mermada en condiciones de sequia a diferencia de lo que ocurre con el virus del mosaico del tabaco.

Se presentarán datos sobre la influencia de las regiones virales involucradas en dicha infectividad diferencial.

LA SOBREEXPRESIÓN DE LA PROTEINA TET-8 DE CAPSICUM CHINENSE PROVOCA LA INHIBICIÓN DEL MOVIMIENTO A CORTA DISTANCIA DE LOS TOBAMOVIRUS DEL MOTEADO SUAVE DEL PIMIENTO Y DEL MOSAICO DEL TABACO Y PROVOCA LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA.

P-Doblas, F. Tena-Fernández, M. T. Alameda, P. Gilardi, M.T. Serra e I. Garcia-Luque
CIB.CSIC. C/Ramiro de Maeztu nº 13 28040 Madrid.

En el laboratorio hemos caracterizado una tetraspanina de C. Chinense, que se asocia a los plasmodesmos y a la membrana citoplasmática y que forma in vivo formas multiméricas y cuya sobreexpresión provoca una inhibición del movimiento a corta distancia de los tobamovirus del mosaico del tabaco y del moteados suave del pimiento pero no frente a otros virus de plantas.

Su sobreexpresión va asociada a una muerte celular programada que no va asociada ni a jasmónico ni a salicílico, quedando por determinar si va asociada a etileno y está mediada por la enzima de procesamiento vacuolar. Se presentarán datos sobre la influencia del etileno en la muerte celular programada y en la protección frente a tobamovirus de crucíferas.

**EFFECTOS DE BIOFUMIGANTES SOBRE LA NEMATOFUNA EDÁFICA:
ENSAYO DE LABORATORIO**

Olalla, C.¹, López-Robles, J.¹, Sacristán, G.², Siverio de la Rosa, F.³ González-López, G.⁴

¹ Área de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Burgos, Pl. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos España.

² Área de Microbiología, Universidad de Burgos, Pl. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos España. gsacristan@ubu.es

³ Departamento de Protección Vegetal, Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA), Ctra. El Boquerón s/n, Valle de Guerra, La Laguna, Tenerife España.

⁴ Servicio de Sanidad y Ordenación Agrícola. Centro de Control de la Patata de Castilla y León. Carretera Río Cavia s/n 09239 Burgos.

La gestión eficaz de las enmiendas puede proporcionar una mejora de la diversidad de la nematofauna edáfica, actuar como elemento regulador de los organismos patógenos y repercutir positivamente en el suelo. Se ensayaron varios tipos de enmiendas orgánicas (abonos verdes, enmiendas de origen animal, compost de lodo EDAR) a distintas dosis y combinaciones hasta un total de 13 tratamientos con cuatro réplicas cada uno, siguiendo el procedimiento de biofumigación en laboratorio descrito por Bello *et al.*, (2003). Se determinó el efecto sobre las poblaciones de nematodos de vida libre (Rabditidos y Doriláimidos) y las de *Meloidogyne incognita* y *Globodera* sp.; el crecimiento de plantas de patata cv “Agria”; y la fertilidad del suelo.

La mayoría de los tratamientos evaluados resultaron efectivos para reducir las poblaciones de *Meloidogyne* y *Globodera* sp. El índice de nodulación de *M. incognita*, grado de infestación de *Globodera* sp y los respectivos porcentajes de mortalidad de J2 mostraron una relación inversa con la dosis empleada para todos los tratamientos. Los mayores incrementos de nematodos libres en la mayoría de los tratamientos ensayados correspondieron a las menores dosis aplicadas.

Respecto al crecimiento de las plantas, los materiales biofumigantes produjeron un efecto favorable con respecto al testigo, siendo más patente este resultado en la altura y al peso total. Respecto al contenido de C, N, materia orgánica, y la relación C/N, la mayoría de los tratamientos no mostraron diferencias significativas con respecto al testigo, pero si se observaron incrementos en algunos tratamientos ensayados.

En general, las enmiendas evaluadas fueron efectivas para reducir las poblaciones de *M. incognita* y *Globodera* sp, favorecer la nematofauna libre, e influir positivamente sobre la fertilidad del suelo y crecimiento de las plantas. Estos resultados se han obtenido en ensayos de laboratorio, por lo que deben realizarse ensayos de campo para validar su efectividad.

ENSAYO PRELIMINAR DEL USO DEL METAVANADATO SÓDICO COMO MARCADOR DE VIABILIDAD EN POBLACIONES DE *Globodera* sp.

González-López, G.¹, Olalla, C.², López-Robles, J.², Sacristán, G.³

¹ Centro de Control de la Patata de Castilla y León. Carretera Río Cavia s/n 09239 Burgos

² Área de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Burgos, Pl. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos España.

³ Área de Microbiología, Universidad de Burgos, Pl. Misael Bañuelos s/n, 09001 Burgos España. gsacristan@ubu.es

La identificación molecular permite separar eficazmente las dos especies de *Globodera* sp., incluso cuando su contenido ya no es viable, porque la larva, aunque deteriorada, sigue presente. Este análisis debería ser completado con un test de viabilidad cuando se proponen planes de control y/o erradicación de la plaga, como requiere la Directiva de control del nematodo 2007/33CE. La exposición de los quistes a lixiviados de raíz (PRD *Potato Root Diffusate*) es el método más utilizado para determinar la viabilidad EPPO PM7/40(3). Sin embargo, es difícil estandarizar y comparar resultados entre laboratorios. El metavanadato sódico (NaVO₃) es uno de los agentes químicos de avivamiento más empleado para nematodos formadores de quistes. Su uso permite la repetitividad y reproducibilidad de los ensayos, no requiere el cultivo en maceta y está siempre disponible. Ensayos previos realizados en laboratorio mostraron su eficacia para el avivamiento de *Globodera* sp., pero no se estudió la respuesta por separado de las especies. Para complementar estos datos se planteó el presente trabajo preliminar en el que se realizó un seguimiento del avivamiento de quistes de dos poblaciones de *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida* frente a dos concentraciones de metavanadato sódico, 0.6mM y 0.16mM, respectivamente. El ensayo se llevó a cabo durante 8 semanas, empleando los mismos quistes y sustituyendo la solución de metavanadato sódico cada semana. Se evaluó semanalmente el nº de larvas avivadas, el patrón de avivamiento y la semana de máxima emergencia. Además se revisaron los quistes para evaluar la viabilidad de la población de partida. Los resultados obtenidos mostraron eficacia en el avivamiento de ambas especies, siendo mayor para *G. rostochiensis*. La máxima emergencia se alcanzó durante la primera semana para *G. rostochiensis* y en la tercera semana para *G. pallida*. El avivamiento al finalizar el ensayo fue mayor en la concentración más alta.

**"NEXT GENERATION SEQUENCING, HERRAMIENTA DE APOYO PARA
CERTIFICACIÓN SANITARIA DE LA VID "**

Padilla, C.¹, Cretazzo Enrico ², Isidro Hita ¹, & Velasco Leonardo ²

¹ IMIDA (Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario)
C/ Mayor s/n , 30150, La Alberca, Murcia,

² IFAPA (Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera)
Cortijo de la cruz s/n ,29140 Churriana, Málaga.

Desde hace casi 40 años el IMIDA, se encarga de la detección y diagnóstico de los virus de vid, dentro del programa-convenio con el MAGRAMA, con el fin de certificar clones candidatos de las variedades de los programas de mejora.

Fruto de nuestro trabajo es la consideración de España a nivel internacional, como un País con un material vegetal de vid sano, de calidad y libre de las virosis contempladas por la legislación europea.

El método de diagnóstico oficial para otorgar la categoría de material certificado es el ensayo biológico (Indexage), que consiste en injertar yemas de los clones candidatos en variedades indicadoras produciendo síntomas visuales característicos de determinadas infecciones. Los virus son organismos cuya distribución puede ser muy irregular en plantas leñosas y cuya expresión sintomática varía en función de las condiciones ambientales y varietales que pueden favorecer su multiplicación. Por ello, la evaluación mediante Indexage necesita 2-3 años.

El material que se pretende certificar, se somete a una primera criba que son los análisis de laboratorio ELISA y real time PCR.

Sin embargo, también es importante identificar otros virus emergentes, o mutaciones, que pudieran ser potencialmente dañinos procedentes de otros países; en cuyo caso hemos de recurrir a técnicas de secuenciación masiva de extractos de RNA y análisis de las lecturas obtenidas.

Esta técnica tiene una sensibilidad muchísimo mayor que las otras técnicas así como altos niveles de fiabilidad. El protocolo consta de: Extracción de microRNA, secuenciación mediante plataforma ilumina (en la UMA o el CRG), generar e intercambiar archivos (reads y contigs) a través del supercomputador Picasso de la UMA y analizar las secuencias mediante Blastx y Blastn a través del software Geneious.

La secuenciación masiva está destinada a abaratare y podría usarse en el futuro como una herramienta de apoyo al diagnóstico rutinario para la certificación.

EFFECTO DEL SITIO EN LA COMUNIDAD FÚNGICA ENDÓFITA DE RAMILLOS DE PINO SILVESTRE EN EL NORTE DE ESPAÑA

Sanz-Ros, A.V.^{1,2}; Müller, M.³; San Martín, R.¹; Diez, J.J.¹

¹ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible. UVa-INIA. Avda. Madrid, 44. Campus La Yutera, 34004, Palencia.

² Centro de Sanidad Forestal de Calabazanos. Consejería de Fomento y Medio Ambiente. JCyL. Polígono de Villamuriel.34190 Villamuriel de Cerrato. Palencia. España. Asistencia técnica Tragsa.

³ The Finnish Forest Research Institute, PO Box 18 (Jokiniemenkuja 1), FI-01301, Vantaa, Finland

Los factores de sitio, incluyendo clima, suelo y características del rodal influyen claramente sobre el crecimiento vegetal. En este estudio se pretende evaluar su influencia en la distribución de hongos endófitos de ramillos de pino silvestre. Nuestros resultados indican que la comunidad de hongos endófitos está claramente asociada a condiciones ambientales y factores de sitio particulares. Parece que estos factores no realizan su acción de forma independiente, de modo que combinaciones de dichos factores producen nichos determinados para especies o grupos de especies fúngicas endófitas.

Endófitos como *Phoma herbarum* y *Hormonema dematioides* fueron encontrados asociados a arboles grandes creciendo rápido sobre suelos arenosos con altos niveles de macronutrientes (N, P y K), sometidos a altas temperaturas y precipitaciones. *P. herbarum* y otras especies del género *Phoma* son capaces de sintetizar reguladores del crecimiento vegetal. Sin embargo no podemos saber si esta especie está influyendo sobre el crecimiento o éste está solamente determinado por las condiciones ambientales. Por ello, es necesario determinar cuál es el papel de este organismo en el crecimiento de pinos, ya que podría tener aplicaciones útiles como bioestimulante, en caso de confirmarse dicha capacidad. La presencia de *H. dematioides* esta inversamente relacionada con la de *B. mediterranea*, sugiriendo que el primero podría estar excluyendo al segundo, lo cual sugiere un papel protector ante otros patógenos, el cual ha sido sugerido anteriormente para esta especie fúngica en yemas de pino silvestre.

En conclusión, las parcelas en las que las condiciones climáticas, edafológicas y del rodal son más favorables para el crecimiento vegetal, como en este caso es la combinación de altas temperaturas y precipitaciones, un elevado contenido de nutrientes edáficos y una densidad adecuada, muestran una mayor abundancia de hongos con un efecto positivo sobre el hospedante, como *H. dematioides* o *P. herbarum*.

RISK ASSESSMENT OF EXPOSURE TO PESTICIDES THROUGH DIETARY INTAKE OF VEGETABLES TYPICAL OF THE MEDITERRANEAN DIET IN THE BASQUE COUNTRY

Ortiz Barredo, A.,¹Lemos, J.¹; Sampedro, M.C.²; de Ariño, A.³, Barrio, R.J.²

¹. Departament of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), 01006, Vitoria-Gasteiz, (Araba),Spain. aortizb@neiker.eus

² Central Service of Analysis, SGIker, University of the Basque Country (UPV/EHU), 01006 Vitoria-Gasteiz, (Araba), Spain

³ ELIKA, Basque Foundation for Agrofood Safety. Granja Modelo, s/n. 01192. Arkaute (Araba), Spain

This study examined estimated dietary exposure among the Basque Country Autonomous Community (northern Spain) to pesticides resulting from dietary intake of unprocessed vegetables. Samples were collected according to a sampling plan established previously, which was performed taking into account statistical factors, such as the population distribution, the point of sale, (local shops or supermarkets), the season and the consumption frequency of each vegetable. A total of 221 samples were analyzed using gas chromatography tandem mass spectrometry (GC–MS/MS), and liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). Results showed that 48.0% of the samples contained no pesticide residues, while 52.0% contained pesticides, and 6.8% of all samples showed residues above the maximum residue limit (MRL). As for the pesticides detected, 56 different active substances were detected, including fungicides and insecticides as the main pesticide types. All of the positive samples were collected in local-area shops. The potential risk to the consumers through vegetable intake was estimated by calculating the Hazard Quotient (HQ), showing ranges between 0.001–0.214%. These results indicate that the exposure to pesticides from vegetable intake among Basque consumers did not raise health concerns. The samples from several supermarkets and markets in the Basque Country were collected according to a sampling plan established beforehand and involving a total of 8 sampling steps between 2012 and 2014. The details of the data, sampling and risk assessment has been published in June 2016 (Journal of Food Composition and Analysis 49:35-41).

REDUCCIÓN DE TRATAMIENTOS FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DEL MILDIU (*Plasmopara viticola*) Y EL OIDIO (*Erysiphe necator*) DE LA VID EN ÁREAS ENDÉMICAS

Díez-Navajas, A.M.¹; [Ortiz-Barredo, A.](#)¹

¹ Departamento de Sanidad Vegetal. NEIKER-Tecnalia. Campus agroalimentario de Arkaute. Apdo. 80. 01080 Vitoria-Gasteiz. aortizb@neiker.eus.

El control de mildiu y oidio de la vid requiere la aplicación de tratamientos fungicidas continuados a lo largo de la campaña. La cantidad de productos fitosanitarios utilizados en el cultivo de la vid es muy superior respecto a la empleada en otros cultivos. Este insumo de agroquímicos tiene dos consecuencias importantes, como es la aparición de resistencias de los agentes patógenos y el incremento del riesgo de contaminación tanto para los aplicadores como para el medio ambiente. Por otro lado, si la aplicación de los mismos no se realiza adecuada y racionalmente, el problema persiste y se incrementa, con el consiguiente incremento del riesgo, costes y reducción de la calidad del producto final. Para reducir el número de aplicaciones fitosanitarias contra ambas enfermedades se aplicaron diferentes esquemas de manejo para el control de ambas enfermedades, en dos parcelas ubicadas en zonas endémicas para cada una: en Laguardia (Rioja Alavesa, Álava) para oidio y en Aia (Gipuzkoa) para mildiu. Los momentos de aplicación de los tratamientos en ambos casos fueron: 1) criterio de bodega/viticultor con productos convencionales, 2) tratamiento con producto residuo cero, 3) riesgo de enfermedad emitido por estación meteorológica, 4) control (sin tratamiento); y en el caso del control del oidio se aplicó un 5º esquema basado en la acumulación de 200 °C para la primera aplicación y en los estados fenológicos para las siguientes. Se consiguió reducir el número de tratamientos respecto al modelo habitual aplicado por bodega/viticultor. Se obtuvieron los mejores resultados de eficacia en el esquema de aplicación basado en los riesgos de enfermedad emitidos por la estación micro-meteorológica en el caso del control de mildiu, y el configurado en base a la acumulación térmica y estados fenológicos para el control de oidio.

Proyecto LIFE-FITOVID ENV/ES/000710.

***Fusarium Circinatum* ISOLATES FROM NORTHERN SPAIN ARE COMMONLY INFECTED BY THREE DISTINCT TYPES OF MITOVIRUSES**

Vainio, E.J.¹, Martínez-Álvarez, P.^{2,3}, Bezos, D.^{2,3}, Hantula, J.¹, Diez, J.J.^{2,3}

1 Natural Resources Institute Finland (Luke), P.O. Box 18, FI-01301 Vantaa, Finland

2 Sustainable Forest Management Research Institute, University of Valladolid – INIA, Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, Spain

3 Departamento de Producción Forestal y Recursos Forestales, University of Valladolid, Avenida de Madrid 44, 34071 Palencia, Spain

Pitch canker is a severe disease of pines caused by the ascomycete fungus *Gibberella circinata* (anamorph = *Fusarium circinatum*). Three distinct mitovirus strains have been described in *F. circinatum*: *Fusarium circinatum* mitovirus 1 (FcMV1), FcMV2-1 and FcMV2-2. Here, we investigated the frequency and population variation of these viruses and closely related sequence variants in northern Spain using RT-PCR and sequencing. Each virus strain and similar sequence variants shared >95% sequence identity and were collectively designated as virus types. All virus types were relatively common in Spain with estimated prevalence of 18.5%, 8.9% and 16.3% for FcMV1, FcMV2-1 and FcMV2-2, respectively.

EVALUACIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS Y MICOPATÓGENOS

Diánez F¹, Santos M¹, Blanco R¹, Gea F.J², Parra C¹.

¹Departamento de Agronomía. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Almería.

msantos@ual.es

² Centro de Investigación, Experimentación y Servicios del Champiñón (CIES), Diputación de Cuenca, Spain

Muchas especies vegetales producen aceites esenciales los cuales juegan un papel importante en los mecanismos de defensa del hospedero contra fitopatógenos. Se ha demostrado que los aceites esenciales y sus compuestos tienen un efecto fungicida y son inocuos para el medioambiente, para los consumidores y para el control de enfermedades poscosecha (Tabassum y Vidyasagar, 2013).

Aceites esenciales de mejorana, tomillo, naranja, lavanda, eucalipto, menta, manzanilla, romero, geranio, ciprés, clavo y patchouli, fueron ensayados *in vitro* para determinar la actividad antifúngica frente a los fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Alternaria brassicae*, *Botrytis cinerea*, y los micopatógenos *Cladobotrym mycophilum* y *Trichoderma aggressivum*. La actividad antifúngica fue determinada por el método de disco difusión añadiendo 8 µl de 5 dosis (5, 10, 15, 20, 30% v/v) de cada uno de los aceites esenciales.

Los resultados obtenidos muestran que la esencia de clavo ha mostrado la mayor capacidad antifúngica frente a todos los hongos, mostrando capacidad fungicida para *C. mycophilum* a las diferentes dosis ensayadas. Asimismo, la esencia de romero ha mostrado una elevada actividad antifúngica superior al 60% para *F. solani* y *Trichoderma aggressivum*. Menta y tomillo han mostrado actividad fungistática para *S. sclerotiorum*, *R. solani* y *F. solani*. Ninguna de las esencias naturales ha mostrado actividad antifúngica frente a *Botrytis cinerea*, salvo la esencia de clavo a la máxima concentración ensayada.

Tabassum N. y Vidyasagar G.M. (2013) Antifungal investigations on plant essential oils. A review. 2013. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 5 (2):19-28

Duru, M.E. Cakir, A. Kordali, S.H. et al. 2003, Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species, Fitoterapia 74 (2003) 170–176.

COMPATIBILIDAD EN EL EMPLEO DE FUNGICIDAS CON *TRICHODERMA SATURNISPORUM*

Santos M., Diánez F., Carrillo J., Carretero F.

Departamento de Agronomía. Escuela Politécnica Superior. Universidad de Almería.

msantos@ual.es

El empleo excesivo de fungicidas para el control de enfermedades ha supuesto una reducción de la diversidad microbiana del suelo, que da lugar en la mayoría de los casos a un incremento de la gravedad de la enfermedad. A pesar de que se conocen los efectos deletéreos para el medio ambiente, el control químico se sigue empleando de forma continuada, por lo que, es necesario determinar la compatibilidad de los fungicidas más utilizados en horticultura, con el empleo de microorganismos como método de control biológico, con el fin de establecer estrategias integradas del uso de ambos.

Para la determinación de la compatibilidad entre ambos sistemas, 12 fungicidas: Azoxistrobin (25%) [SC] P/V; Flutriafol (12,5%) [SC] P/V; Clortalonil (50%) [SC] P/V; Triadimenol (25%) [EC] P/V; Mancozeb (75%) [WG] P/P; Fosetil-AL (80%) [WG] P/P; Ciprodinil (37,5%) + Fludioxonil (25%) [WG] P/P; Miclobutanil (24%) [EC] P/V; Mancozeb (80%) [WP] P/P; Fenhexamida (50%) [WG] P/P; Hidroxido cúprico (35%) [WG] P/P; Cimoxanilo (45%) [WG] P/P. fueron ensayados a cuatro concentraciones, correspondientes a la mínima (D2) y máxima autorizada (D3), la mitad de concentración de la mínima (D1) y 1,5x de la máxima (D4).

Los resultados muestran que las sustancias activas **Azoxistrobin, Mancozeb, Ciprodinil, Ciprodinil + Fludioxonil y Miclobutanil**, no inhibe el desarrollo micelial ni esporulación de *T. saturnisporum*. Los resultados consideran, sustancias activas “ligeramente tóxicas”, **Mancozeb, Fenhexamida, Cimoxanilo, Fosetil-Al** para la dosis dos y tres (D2 y D3) y **Triadimenol** para la dosis dos (D2). Según esta escala se produce una inhibición del crecimiento comprendida entre el 30 y 75%, reduciéndose la compatibilidad entre ambos agentes. Se consideran sustancias activas “moderadamente tóxicas” a **Hidroxido Cuprico**, para la dosis dos y tres (D2 y D3) y **Triadimenol** para la dosis tres (D3). sustancias activas “tóxicas” y por tanto incompatibles con *Trichoderma* a **Flutriafol** en todas las dosis ensayadas, **Clortalonil** para las dosis dos, tres y cuatro. La dosis cuatro (D4) se consideran “tóxica” para las sustancias activas **Fosetil-Al e Hidroxido Cuprico**.

Con estos resultados, se podría utilizar *T. saturnisporum* como herramienta de control biológico en presencia de estos fungicidas sin poner entredicho la efectividad de *Trichoderma saturnisporum* como agente de control biológico.

LA INFECCIÓN DE LAS RAÍCES DE *Pinus pinaster* POR *Fusarium circinatum* CONDUCE A UNA MENOR MORTANDAD QUE LA OBSERVADA EN PLÁNTULAS DE *Pinus radiata*

Noemí Martín-Rodrigues^{1,2}, Joseba Sánchez-Zabala¹, Marta Otero¹, Carmen González-Murua¹, Amaia Ortiz-Barredo² y Miren K. Duñabeitia¹.

¹Laboratorio de Fisiología Vegetal. Departamento de Biología Vegetal y Ecología. Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Barrio Sarriena s/n. E-48940, Leioa, Vizcaya, España; ²Departamento de Sanidad Vegetal. Neiker-Tecnalia. Centro de Arkaute. Apto 46, E-01080, Vitoria, Álava, España.

Recientemente, se ha descrito el potencial de *Fusarium circinatum*, el hongo causante del chancro resinoso de los pinos, para explorar el suelo e infectar eficazmente las raíces de *Pinus radiata* sin que sea necesaria una herida por la que penetrar. La dispersión de este patógeno a través del sustrato de crecimiento de las plantas puede ocasionar graves daños en los viveros, por lo que existe un interés creciente en evaluar su capacidad para infectar las raíces de otras especies hospedadoras. En este sentido, en Europa, destaca *Pinus pinaster* como una de las especies más utilizadas en las repoblaciones forestales debido a su gran aprovechamiento maderable.

En este estudio, se compara el desarrollo de la enfermedad en plántulas de *P. pinaster* cuyas raíces han sido infectadas por *F. circinatum* con el proceso observado en *P. radiata*. Se analizó la evolución en la incidencia de los síntomas de la enfermedad a lo largo del tiempo y los mecanismos mediante los cuales el patógeno conduce a la muerte de las plántulas en ambas especies. Para ello, se utilizó una cepa transformada de *F. circinatum* que porta y expresa eficazmente el gen de la proteína verde fluorescente y se monitorizó el proceso de infección usando un microscopio láser confocal de barrido.

En los ensayos de infección, *P. pinaster* mostró un índice de supervivencia mucho mayor que el observado en *P. radiata*. No obstante, el modo en que el patógeno ocasionaba la muerte de las plantas fue similar en ambos casos y principalmente dependía del grado de colonización del sistema vascular en la región del cuello de raíz. Se encontró además que las raíces de *P. pinaster*, a diferencia de las de *P. radiata*, habían establecido simbiosis con hongos ectomicorrícicos del género *Rhizopogon*, los cuales podrían haber ejercido un efecto protector frente al patógeno.

DETECCIÓN DE STV EN VARIEDADES COMERCIALES DE TOMATE

Font-San-Ambrosio, M.I.¹, Alfaro-Fernández, A.¹, Puchades, A.², Rubio, L.², Estévez-Caparrós, J.M.³, Muñoz-Yerbes, M.J.⁴, Espino, A.⁵, Benito, P.⁶, Monagas, J. J.⁶, Serra, J.², Rosello, J.², Hernández, D.¹, Blanco, L.¹, Bosch, R.¹, Guerri, J.², Cano-García, A.M.⁸, Reyes-Betancort, J. A.⁹, Galipienso, L.²

¹Grupo de Virología. Instituto Agroforestal Mediterráneo. Universitat Politècnica de València. Cno. Vera s/n. 46022 Valencia (España).

²Virología. Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. IVIA. Carretera CV-315, Km. 10. 46113 Moncada, Valencia (España).

³Granada- La Palma Sociedad Coop. Andaluza. C/CN340 PK342. 18730 Carchuna, Granada (España)

⁴Laboratorio de Diagnóstico Fitopatológico-Virología. Generalitat Valenciana. Av/ de Alicante s/n - 46460 Silla, Valencia (España).

⁵Laboratorio de Sanidad Vegetal Dirección General de Agricultura Carretera del Boqueron s/n Valle de Guerra. 38270 La Laguna, Tenerife (España). ⁶Laboratorio de Fitopatología. Servicio de Laboratorios Agroalimentario y Fitopatológico. Ctra. General del Norte, km 7.2. Cardones. 35415 Arucas (Gran Canaria) Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca. Cabildo de Gran Canaria.

⁸Laboratorio de Sanidad Vegetal. C/ Mayor, nº1. 30150, La Alberca, Murcia

⁹Jardín de Aclimatación de La Oratava (ICIA). C/ Retama 2, C.P. 38400 Puerto de la Cruz Santa Cruz de Tenerife, España

E-mail. mafonsa@upvnet.upv.es

El virus meridional del tomate (*Southern tomato virus*, STV), es un virus cuyo genoma consta de una molécula de RNA de doble cadena de 3.5 Kb con dos ORFs solapantes que codificarían para la proteína de cubierta y para la RNA polimerasa. Ese virus está relacionado filogenéticamente con las familias *Totiviridae* (contiene virus de nematodos y protozoos) y *Partitiviridae* (que contiene virus de hongos y plantas). Forma parte de un grupo de virus que constituyen el nuevo género *Almagavirus* (familia *Almagaviridae*) catalogado como un grupo de criptovirus. STV no se transmite de forma mecánica ni por injerto, pero sí por semilla, con una altísima eficiencia que puede alcanzar el 90% o más. Desde su primera de detección en España en cultivos de tomate en 2013, se ha detectando en numerosas plantaciones de tomate de variedades comerciales y locales de distintas zonas productoras. STV está presente en plantas que presentan frutos con maduración irregular, en infección simple o en coinfección con otros virus, así como en plantas asintomáticas. Con el objetivo de determinar la presencia generalizada o no de este virus en el germoplasma de tomate, se han analizado alrededor de 20 lotes de semillas y más de 30 muestras de plántulas procedentes directamente de semilleros de distintas variedades comerciales y locales. En el desarrollo del presente trabajo, se ha podido comprobar que el STV está ampliamente distribuido en el germoplasma de tomate. Aunque los criptovirus se caracterizan por no causar enfermedad de importancia económica, estos pueden tener efectos significativos en la evolución de los virus fitopatógenos y en su hospedante, por lo tanto no debe ser desestimado el papel que el STV pueda ejercer en el desarrollo enfermedades virales.

Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto INIA titulado “Emergencia del virus meridional del tomate (*Southern tomato virus*, STV) en cultivos de tomate en España: Caracterización, epidemiología y desarrollo de estrategias para su control” (E-RTA2014-00010-C02-02).

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA PARA LA DIFERENCIACIÓN DE LOS SITIOS DE ALIMENTACIÓN DE NEMATODOS FITOENDOPARÁSITOS

Díaz-Manzano, F.E.¹, Cabrera, J.¹, Olmo, R.¹, Silva, A.C.¹, Barcala, M.¹, de Andrés, M.F.², Martínez, I.¹, Fenoll, C.¹ y Escobar, C.¹

¹ Facultad de Ciencias Ambientales y Bioquímica, Universidad de Castilla La Mancha, Avenida Carlos III, s/n, 45071, Toledo, España. ² Departamento Protección Vegetal, Instituto Ciencias Agrarias, CSIC, Calle de Serrano, 115, 28006, Madrid, España.

Fernando.Diaz@uclm.es; Javier.CabreraChaves@uclm.es

Los nematodos fitoendoparásitos formadores de agallas pertenecientes al género *Meloidogyne* spp. producen pérdidas agrícolas importantes. Estos nematodos infectan las plantas en la zona de elongación de las raíces penetrando intercelularmente en el cilindro vascular por la zona meristemática; allí, inducen la formación de pseudoórganos llamados agallas por hipertrofia de tejidos, donde se establecen. Estas agallas contienen sus células de alimentación, llamadas células gigantes (CGs), aunque aún se desconocen las células iniciales a partir de las que se desarrollan (Escobar et al., 2015).

Nuestro grupo ha realizado análisis específicos de estas células aislándolas por láser y estudiando su transcriptoma diferencial en *Arabidopsis*, que indicó un alto número de genes reprimidos (Barcala et al., 2010), lo que es consistente con un proceso de reprogramación génica para la diferenciación de células especializadas. La secuenciación masiva posterior de los small RNAs (sRNAs) es consistente con un posible papel en este silenciamiento debido a la abundancia de sRNAs de 24 nucleótidos en agallas respecto a tejido no infectado, estando implicados en procesos de regulación epigenética. Además, es posible que éstos, junto con microRNAs (miRNAs) diferencialmente expresados, medien la represión masiva de genes descrita en CGs. En este contexto, hemos estudiado la implicación del miR390a y miR172 en la interacción, ambos reguladores de factores de transcripción relevantes en la interacción planta-nematodo. Así mismo, los transcriptomas específicos de CGs en estadios de desarrollo temprano muestran similitudes con transcriptomas de células indiferenciadas del meristemo apical de la raíz y de primordios de raíz lateral. En este sentido, hemos probado diversos marcadores usando fusiones a genes delatores cuyos patrones de expresión sugieren que la agalla tiene características meristemáticas y que presenta similitudes con el desarrollo de raíces laterales mostrando patrones paralelos de diferenciación.

Referencias

Barcala et al., 2010. *Plant Journal*, 61: 698-712.

Escobar et al., 2015. *Advances in Botanical Research*, 73:1-32.

ÍNDICE ALFABÉTICO DE AUTORES

Listado Alfabético de Autores	Número de Página
Abad Campos, Paloma	94, 301
Abadias , Maribel	78
Abelleira Argibay, Adela	77, 324
Achaerandio , María Isabel	124
Acosta Morel, Wilson	141
Aedo , Carlos	118
Agalliu , Gentian	259
Aguado Puig, Ana	144
Agüero , Jesus	286
Aguilar Parras, Emmanuel	103, 104, 207
Aguilar Tarbay, Fulgencio Wadi	285
Aguilera Lirola, Antonio	87, 187
Aguín Casal, Olga	255, 271, 278, 279, 307, 324
Agustí-Brisach , Carlos	259, 260, 288, 290, 292
Alameda , M ^a Teresa	337
Alcaide , Cristina	71, 275
Acaide, Francisco	94
Alcántara Vara, Esteban	169
Alfaro Fernández, A.	100, 265, 266, 297, 304, 348
Alfonso Rancaño, Amparo	255, 307
Alia , Ricardo	299
Alonso , Dolores	244
Alonso , Jose María	244
Alvares , Danilo	302
Álvarez Clouet, Beltran	323, 325
Álvarez Ortega, María Belén	79
Alves , Artur	328, 330
Alves Santos, Fernando Manuel	225
Amil Ruiz, Francisco	133
Anta , Francisco	141
Antequera Gómez, María Luisa	230, 264
Antolinez Delgado, Carlos Andrés	140
Añorga García, Maite	85
Aparicio Herrero, Frederic	199, 232, 235
Aprile Mancha, Francesca	174
Aragonés , Ana	61, 252
Aragonés Blasco, Verónica	206
Arana-Peña , Sara	336
Aranda Regulés, Miguel Angel	71, 286, 293, 320
Archidona Yuste, Antonio	115, 194, 201
Arenas Rojas, J. Carlos	284
Arias Martín, María	189, 190
Ariza Fernández, María Teresa	99, 268, 275
Arizmendi , Sergio	146
Arjona Girona, María Isabel	99, 125, 133, 243, 268, 270, 273, 275, 331
Arjona López, Juan Manuel	99, 133, 275, 331

Armengol , Josep	146, 172, 236, 269, 272, 274, 276
Armero , Carmen	302, 306
Arquero Quíles, Octavio	91, 145, 229, 263
Arrebola Díez, Eva	174, 192
Artigues , Miquel	309
Asbjornsen , Heidi	128
Aveline , Nicolas	123
Ávila , Aranzazu	288, 292
Avilés Guerrero, Manuel	119, 220, 221, 222, 223
Ayllón , María A.	101, 313
Azevedo , Telma	227
Azurmendi , Fernando	154
Badosa Romañó, Esther	85, 121, 122
Báez Ojeda, Lizabeth	224
Balguerías , Covadonga	118
Bande Castro, Maria Jose	307
Barcala , Marta	69, 349
Bardaji Goikoetxea, Leire	81, 183, 332
Barón Ayala, Matilde	104, 119
Baroncelli , Riccardo	130
Barrau García, Carmen	326
Barreiro Elorza, Pilar	190
Barrio , Ramon	342
Barroso , J.	314
Basallote Ureba, María José	144, 196, 197, 326
Bascón Fernández, Juan	219
Batle Durany, Assumpció	309, 310, 311, 317, 333
Becedas , Jose M ^a	336
Belda Suárez, José Eduardo	151, 152, 186
Benali , A	288
Benito , P.	348
Benito , Puri	304
Bera , Sayanta	138
Berbegal , Mónica	146, 267, 274, 276
Berenguer , Helder	328
Bernal , Angeles	216,217
Berra , Dionisio	317
Berruete Rodríguez, Isabel M.	117
Bertolini , Edson	97, 266, 324
Beuzón López, Carmen Rosario	84, 74, 294
Bezoz , Diana	114, 344
Bijora, Taise	212
Blanco , R.	345
Blawid , Rosana	212
Blázquez Noguero, M ^a dolores	86
Blok , Vivian C.	201
Bonaterra Carreras, Anna	121
Bonilla Martinez, Alfonso	336

Borrero Vega, Celia	219, 220, 221, 222, 223
Botana López, Luis	307
Botella , Leticia	282
Bourgeois , Michael	105
Braña Argüelles, Máximo	180
Brenning , Alexander	61
Broders , Kirk	128
Caballero , José Luis	133
Caballo Ponce, Eloy	116
Cabrefiga Olamendi, Jordi	121, 122, 239, 240, 262 314
Cabrera , Javier	69, 349
Calvo-Garrido , Carlos	123
Cámara Almirón, Jesús	230
Cambra Álvarez, Mariano	51, 97, 266, 312, 324
Cambra Álvarez, Mguel A.	117
Camisón , Álvaro	94
Camó , Cristina	83
Campelo Rodríguez, M ^a Piedad	86, 204, 316
Campos , Juan Antonio	277
Campos-Rivela , Jose Miguel	310
Cano García, A.M.	348
Cantalapiedra Navarrete, Carolina	115, 194, 201
Cantero , Alejandro	61
Canto Ceballos, Tomás	103, 104, 207
Cañada Martín, Francisco	117
Cañizares, M. Carmen	96, 210, 234
Capote Maínez, Nieves	144, 196, 197
Capretti , Paolo	282, 330
Carbó Torres, Anna	281
Carbonell Olivares, Alberto	66, 206
Carpino , Caterina	300, 304
Carrasco , Jaime	161, 162
Carrero Carrón, Irene	108
Carretero , F.	346
Carrillo , J.	346
Carro Huerga, Guzmán	204
Carreras , María	90
Casadesús , Josep	84
Casado , Alvaro	286
Casado Del Castillo, Virginia	131, 224
Casquero Luelmo, Pedro A.	204
Castedo Dorado, Fernando	316
Castillo , Pablo	115, 194, 201
Castillo , Raquel	168, 237
Castillo Ortiz, Purificación	236, 257, 258
Català García, Santiago	94, 146, 301
Català Senent, José Francisco	227
Cazorla López, Francisco Manuel	89, 174, 192, 331

Cerdán García, Lidia	66
Cerezo García, Miguel	116
Cerna Rebaza, Lisi	157
Cerna Vargas, Jean Paul	215
Cerqueira , Andreia	328
Chamorro , Manuel	62
Chico Ruiz, Julio	157
Chung , Bong-Nam	103, 104
Claros Díaz, M. Gonzalo	261
Coira , Begoña	93
Collada , Carmen	93
Collados Collados, Raquel	117
Conejero , Lorena	90
Conesa Guillén, David Valentín	113, 213
Cordero Cucart, María Teresa	66, 206
Correia , Barbara	328
Costa Jover, Carlos	199
Costa Sanagustín, Elena	281
Costas Imbernón, Daniel	271, 278.
Cotes Prado, Alba Marina	127
Coté , Chantal	308
Cotelo , María	218
Cothiere , Odibert	185
Crespo Presa, Víctor	316
Cretazzo , Enrico	99, 245, 261, 268, 275, 340
Cubero Dabrio, Jaime	60, 117, 158, 191
Cuenca , Beatriz	94
Cuevas Zuviría, Bruno	59
Cutrona Sánchez, Carmen	104
Dapena De La Fuente, Enrique	86, 333
Daranas Boadella, Núria	121
Darós Arnau, José Antonio	66, 199, 205, 206
Davidou , Ludivine	123
Davino , Salvatore	300, 304
de Andrés, M.F.	349
De Aroño , Amaia	342
	90, 126, 148, 163, 165, 166, 167, 168, 170,
De Cal Cortina, Antonieta	237
De Cara García, Miguel	87, 187, 188
De Gea Hernández, Anaïs	241
De La Fuente , Leonardo	76
De La Lastra Alcalde, Eduardo	144
De Prado Ordás, Nuria	177
De Vega Bartol, José Javier	131
De Vicente Moreno, Antonio	53, 62, 64, 89, 174, 192, 211, 230, 264
Del Hierro García, Irene	147
Del Moral De La Vega, José	193
Del Moral Martínez, Jerónimo	193

Del Río Álvarez, Isabel	67
Del Toro Serna, Francisco Javier	103, 104, 207
Diáñez , F.	345, 346
Díaz , José	110, 132, 216, 217, 218, 226
Díaz González, Sandra	147
Díaz Mínguez, José María	131, 141, 224
Díaz Pendón, Juan	137
	5, 92, 135, 247, 149, 308, 315, 328, 329, 330,
Díez Casero, Julio Javier	341, 344
Diez Navajas, Ana Maria	343
Diezma Navas, Laura	72
Doblas , Paula	337
Dominguez Alonso, Juan Carlos	323, 325
Donaire Segarra, Livia	101, 72, 103, 313
Door Peeters , Anthony	232
Dueñas Fortuoso, Miriam	323, 325, 327
Duñabeitia Aurrecoechea, Miren Karmele	153, 154, 347
Dvořák , Miloň	282
Echeverría Ancín, Myriam	332
Egea , Leticia A	173
Elvira , Laura	305
Elvira-Recuenco , Margarita	61, 254, 277, 299
Escobar , Carolina	69, 349
Escriu Paradell, Fernando	98
Espeso , Eduardo A.	170, 244
Espino , Ana	304, 348
Espinosa Borreguero, Francisco	193
Esteban Lopez, Adriana	198
Esteras Gómez, Cristina	106, 242
Estévez Caparrós, Jose Manuel	297, 348
Escudero Benito, Nuria	181
Etxeandia , Aitor	317
Expósito , Alejandro	319
Fabricius , K.M.	272
Farina , Vittorio	274
Feliu , Lidia	83
Fenoll , Carmen	69, 349
Fereres Castiel, Alberto	140, 280
Feria Pérez, Francisco Javier	287
Fermaud , Marc	123
Fernández , Ivan	86
Fernández Fernández, Mercedes	135, 330
Fernández Gálvez, Diego	301
Fernández Gómez, Elena	171
Fernández González, Raúl Arcadio	92
Fernández López, Iván	86
Fernández Martín, Ainhoa	87, 187, 188
Fernandez Molina, Pedro	198

Fernández Ortuño, Dolores	62
Fernández Sanz, Ana M.	179
Ferragud Capó, Elisa	60
Ferrándiz , Juan Carlos	265, 266
Ferreiroa Martínez, Vanesa	255, 271, 278, 307
Ferriol , Inmaculada	73
Ferriol Molina, María	106, 242
Fiallo Olivé, Elvira	137
Fibla Queral, Jose Miguel	310
Fischer , Michael	184
Flores Pacheco, J. Asdrúbal	135, 247, 249
Flores Pedauyú, Ricardo	55, 97
Flors , Víctor	216
Font San Ambrosio, María Isabel	100, 265, 266, 297, 304, 348
Fontaniella , Blanca	166
Forte , Anabel	302
Fortes Cuenca, Isabel María	137
Fraile , Aurora	59, 138
Francés Ortega, Jesús	121
Galeano Revert, Magda	151, 152
Galipienso Torregrosa, Luis	199, 300, 302, 303, 304, 305, 306, 348
Gálvez Patón, Laura	189, 190
Gandía Gómez, Mónica	109, 214
Garbelotto , Matteo	267
Garcés Claver, Ana	185
García , Ignacio	277
García , Tania	110, 132, 216, 218, 226
García Becedas, María Teresa	177
García Benitez, Carlos	166, 167
García Domínguez, Celsa	124, 127
García Lavado, José Manuel	134
García Luque , Isabel	334, 335, 336, 337
García Mas, Jordi	105
García Pedrajas, María Dolores	96, 210, 234, 283
García-Arenal , Fernando	59, 138
García-Villalba , Julio	286
Garita Cambroner, Jerson	60
Garrido Gala, José	133
Garrigues Cubells, Sandra	109
Gascón Sangüesa, Beatriz	83, 262
Gaspar , María João	299
Gata Martín, Aurora	220, 221, 222, 223
Gautier , Thomas	123
Gea , Francisco J.	161, 162, 345
Gianguzzi , G.	274
Gil , Luis	93
Gilardi , Patricia	337
Giménez Mariño, Cristina	253

Giménez Segura, Lorenzo	187, 188
Giné Blasco, Ariadna	124, 142, 295, 319
Giner , Ana	105
Gisbert , Carmina	124, 319
Gomariz Perez, Josefa	203
Gómez , Pedro	293
Gómez Aparicio, Lorena	134
Gómez Gálvez, Francisco Jesús	155, 156
Gómez López, Pedro	293
Gómez Maya, Aurora	219
Gómez Vázquez, Julio Manuel	87, 187, 188, 318
Gómez-Aix , Cristina	71
Gómez-Bernardo Villar, Eva M ^a	86
Gómez-Lama Cabanás, Carmen	107, 178
Gonzalez , Ana Jesus	174, 180
Gonzalez , Cristina	295
González Biosca, Elena	347
González Casas, Alejandro	323, 325, 327
González Domínguez, Elisa	274, 276, 289
González Fernández, Ana J.	77, 179, 180
González Fernández, Sara	173
González García, Vicente	184, 185
González Jartín, Jesus María	255, 307
González López, Gema	338, 339
González López, Óscar	204
González Romero, Mario	134
González-Melendi De León, Pablo	147
González-Murua , Carmen	347
Gorris , María Teresa	118
Gosálvez Bernal, Blanca	293
Gotor-Vila , Amparo	78
Gramaje , David	172, 272
Guerra García, José Asterio	324
Guerrero , Darío	261
Guerrero Diaz, Maria Del Mar	198, 200, 203
Guerri , José	304, 348
Guijarro Días-Otero, Belén	126, 163, 164, 165
Gutierrez , Laurence	202
Gutiérrez , Francisca	289
Gutiérrez Martín, Santiago	204
Guzmán Benito, Irene	72
Gyetvai , Gabor	105
Haidar , Rana	123
Hantula , Jarkko	282, 330, 344
Haque , Mohammed Masum Ul	329
Heis , Juan	250
Hermosa Prieto, Rosa	108
Hernández , Laura	61, 164, 277

Hernandez , Pilar	164, 177
Hernández Aparicio, Francisco Jorge	224
Hernandez Colucho, Mari Angeles	202
Hernández Llópis, Desamparados	100, 265, 266, 297, 348
Hernandez Piñera, Ana	203
Hernández Suárez, Estrella	324
Hernando , Yolanda	286
Herranz , Yolanda	90, 216, 237, 244
Hidalgo Moya, Javier Jesús	155
Hidalgo Moya, Juan Carlos	155
Higuera Sobrino, José Javier	133
Hita Gambín, Isidro	340
Homet Gutierrez, Pablo	134
Ibañez Torrent, Isabel	266
Ibarra Ibáñez, Nieves	117
Iglesias , Manuel	217
Ioos , Renaud	330
Iturritya , Eugenia	61, 252, 254, 256, 277, 299
Jankovsky , Libor	282
Jara , Alberto	198
Jaramillo , Alfonso	206
Jiménez Díaz, Rafael Manuel	65, 108, 112
Jiménez Gasco, María Del Mar	65, 112
Jiménez Ruiz, Jaime	280
Juárez Gómez, Miguel	71, 293
Kalantidis , Kriton	66
Katsarou , Konstantina	66
Klosterman , Steven Joseph	283
Lacasa Martínez, Carmen Maria	198, 200, 202, 203
Lacasa Plasencia, Alfredo	198, 200, 202, 203
Laflamme , Gaston	308
Lainez , María Carmen	162, 165
Landa, Blanca	23, 47
Landa Del Castillo, Blanca B.	65, 76
Ladeira , Micaela	100, 297
Landeras Rodríguez, Elena	77, 180
	90, 126, 132, 163, 164, 165, 168, 216, 237,
Larena Nistal, Inmaculada	244
Larruy García, Beatriz	207
Laviña Gomila, Amparo	309, 310, 311, 317, 333
Lázaro , Elena	306
Lekhbou , Aymam	133
Lemos , Jon	342
Lemus Minor, Carlos Germán	96, 234
Lerma Tobarra, María Luisa	236, 257, 258
Llave , César	72
Lledó Gómez, Santiago	160
Llorente , Briardo	205

Llorente Cabratosa, Isidre	139, 262
Lois , Marta	132, 216, 218, 226
López , Ana	263
Lopez Bernal, Alvaro	169
López Del Rincón, Carmelo	106, 199, 232, 242, 305, 306
López Escudero, Francisco Javier	91, 107, 210, 250, 251, 296
López García, Gemma	147
López Gómez, Manuel	124, 319
López González, María Milagros	60, 77, 79, 117, 227, 321, 324 99, 125, 133, 243, 268, 270, 273, 275, 284, 331
López Herrera, Carlos José	331
Lopez Llorca	181
López Márquez, Diego	74, 84, 294
López Moya, F.	181
López Pagán, Nieves	74, 84
López Quílez, Antonio	113, 213
López Robles, Javier	338, 339
López Santísima Trinidad, Ana Belén	241
López Solanilla, Emilia	67, 215
López-Moral , Ana	145
Lorenzana De La Varga, Alicia	86, 204, 316
Lovera Manzanares, María	145, 229, 263
Luchi , Nicola	282
Luque , Francisca	145, 260
Luque Font, Jordi	229
Macaya Sanz, David	159
Majer , Eszter	205
Mansilla Vázquez, Pedro	255, 271, 278, 279, 307, 324
Manzanares Mir, Paloma	109
Manzanos , Tania	61, 252
Marco-Noales , Ester	118, 227, 321, 324
Marcos Fernández, M ^a Fe	86, 316
Marcos López, Jose F.	109, 214
Marín Andrés, Francisco	186
Marin Ortiz, A	161
Mariyapan, , Kumar	334
Martín , María Ángeles	94
Martín García, Jorge	135, 247, 249, 329, 330
Martín García, Juan Antonio	159
Martín Hernández, Ana Belén	323, 325
Martín Hernández, Ana Montserrat	105
Martín Robles, Manuel Jesús	287
Martín Sanz, Alberto	173
Martínez, I.	349
Martínez , María Carmen	97, 162
Martínez Alarcon, Victoriano	198, 200, 202, 203
Martínez Arias, Clara	159
Martínez Cruz, Jesús	64, 211

Martínez Doncel, Alba	189
Martínez Lluch, Mari Carmen	198, 200
Martínez López, Juan Antonio	285
Martínez Manjavacas, Carmen	176, 177
Martínez Martínez, Cecilia	106, 242
Martínez Minaya, Joaquín	213
Martínez Pérez, Mireya	199, 232
Martínez Rojas, Sergio	235
Martínez-Alvarez, Pablo	92, 114, 135, 247, 249, 344
Martínez-Ferrer, M ^a teresa	310
Martín-Rodrigues, Noemí	153, 154, 347
Massart, Sebastien	175
Mayo Prieto, Sara	204
Mayor Crespo, Eva	323, 325
Mcintire, Cameron	128
Medel, David	93
Mediavilla Estébanez, Pedro	225
Medina Pilés, Vicente	319
Melero Vara, José María	197, 284
	90, 126, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 170,
Melgarejo Nardiz, Paloma	237, 244
Mendez-Colmenero, Antonio	286
Méndez-López, F. Eduardo	320
Mercado Blanco, Jesús	107, 178
Mesa Quijano, Paula Elisabeth	127
Merchán, Rocio	227
Mesanza, Nebai	61, 254, 256
Miarnau Prim, Xavier	229
Milgroom, Michael G.	65, 112
Minafra, Angelantonio	175
Miñarro Prado, Marcos	333
Mira Vidal, José Luis	146, 213
Miranda Fuentes, Pedro	82, 231
Miranda Izcara, Jorge	323, 325
Molina Fernández, Antonio	46, 147
Molina Hernández, Jonathan	208
Molinero Ruiz, Leire	119, 169, 173
Monagas, J.J.	348
Monge Blasco, Pablo	98
Montaner, Celia	185
Monte Vázquez, Enrique	108
Monteiro, Pedro	328
Monterde Latorre, Adela M.	77, 177
Montes Borrego, Miguel	76
Montesinos Barreda, Laura	83, 122
Montesinos Herrero, Clara	148
Montesinos Seguí, Emilio	83, 121, 122, 139, 239, 240, 262, 314
Monzó Donat, Inmaculada	206

Mora Pons, Isabel	239
Mora Sala, Beatriz	301, 94
Moragrega Garcia, Concepció	139, 262
Moral , Juan	259, 289, 290, 291
Morales Nicolas, Gerard	139
Morales Rodrigo, Sara	160
Morán Villamizar, Félix	77
Moreno Lozano, Aránzazu	140, 280
Moreno Pérez, Alba	183
Moreno Pérez, Manuel	138
Moreno Rojas, José Manuel	270, 273
Moreno Salmerón, Jesús	151, 152
Morente , Clara	77, 118
Moriones Alonso, Enrique	137
Moura , Luísa	227
Moyano , Enriqueta	133
Mulero-Aparicio , Antonio	246, 248
Müller , Michael	341
Munck Alvarez, Isabel	128
Munera , María	124, 319
Muñoz Adalia, Emigdio Jordán	135, 247, 249
Muñoz Barrios, Antonio	147
Muñoz Blanco, Juan	133
Muñoz Gómez, Ramona María	236, 257, 258
Muñoz Yerbes, M.J.	238, 300
Murillo Martínez, Jesús	85, 183, 332
Nagata , Tatsuya	212
Navarro , Inmaculada	118, 321
Navarro , María Jesús	161, 162
Navarro Bohigues, José Antonio	228
Navarro, Javier	321
Navas Castillo, Jesús	137
Navas Cortés, Juan Antonio	65, 194
Nieves López, Pagán	74, 84
Niño Sánchez, Jonathan	131, 224
Nogales , Sandra	124
Ochoa-Martínez Martínez, Daniel Leobardo	235
Olalla Gómez, Casilda	338, 339
Olivares- García, Concepción	65, 112
Oliveira , Rodriguez	259
Ollero Lara, Andrés	229
Olmo, R	349
Olmo , Diego	172, 272
Olmos Castelló, Antonio	175, 176, 177, 303
Ormeño , Sara María	93
Orta Cordero, María Salud	219
Ortega Lazaro, Jonatan	311
Ortego , Félix	336

Ortiz Barredo, Amaia	342, 343, 347
Ortiz Bustos, Carmen Maria	119, 169
Osorio , Sonia	104
Ostos Garrido, Eduardo	210, 296
Otero Nalbán, Marta	153, 154, 347
Padilla Martinez, Carlos	340
Pagán , Israel	313
Palacio Bielsa, Ana	60, 117
Palazón Español, Mª Luisa	117
Pallás Benet, Vicente	100, 228, 232, 235, 298
Palmero Llamas, Daniel	189, 190
Palomares Rius, Juan Emilio	115, 194, 201
Palomo Gómez, Jose Luis	47, 287
Palou Vall, Lluís	148
Pando , Valentín	249
Pardiño , Clara	218
Parra , C.	345
Parra Sáez, María Ángeles	285
Pascual , Laura	105
Pascual Valero, Jose Antonio	241
Patten , Cheryl L.	61, 254, 256
Pedrero Vega, Elena	230
Peiró , Rosa	303, 305
Peñalver Navarro, Javier	118, 77, 321, 324
Perea , Alicia	168
Pereira Caro, Gema	270, 273
Perera González, Santiago	208
Pérez Artés, Encarnación	96, 210, 234
Pérez Benito, Ernesto	141
Pérez Bueno, Mª Luisa	104, 119
Pérez Escolar, Gema	323, 325
Pérez García, Alejandro	62, 64, 211, 230
Pérez Hernández, Ana	87, 187, 318
Pérez Martínez, Isabel	182
Pérez Otero, Rosa	324
Pérez-Rodríguez , Mario	250, 251, 259
Peri , Ezio	300
Picó Sirvent, Belén	106, 242
Pieterse , Corné M.J.	93
Pintado Calvillo, Adrián	85, 182
Pinto , Glória	328
Pintos Varela, Cristina	271, 278, 279
Planas , Marta	83
Poblaciones Suárez-Bárcena, María José	160
Polonio Escalona, Álvaro	211
Poyatos Martínez, Marina	187, 188
Pradas , Inmaculada	270
Prieto , Pilar	115, 283

Prieto Recio, Cristina	315
Puchades , Andrés	304, 348
Pujolà , Montserrat	124
Quintana González de Chaves, María	253
Rakhshandehroo , Farshad	207
Ramírez , José Antonio	118
Ramirez Carreras, Bartolome	198
Ramos , Judit	124
Ramos Martínez, Brisa	131, 147
Ramos Rodríguez, Cayo Juan	85, 116, 182, 183
Raposo , Rosa	61, 254, 277, 299, 330
Ravnikar , Maja	175
Raya , M ^a Carmen	82, 145, 231, 233, 260, 263, 291
Rech , Gabriel E	68
Recio , Carlos	118
Redondo Fernández, Vanesa	271, 278, 279
Refoyo Píriz, Antonio	220, 221
Renedo Ferreiro, Fernando	323, 325
Renobales , Gustavo	277
Rey , Carlota	218
Reyes Betancort, J. A.	248
Rial Martínez, Cristina	271, 278, 279
Rios , Pablo	105
Ritter Enrique , Iturritxa Eugenia	61, 252
Robles Montalvo, Laura	165
	82, 91, 229, 231, 233, 250, 251, 259, 260,
Roca Castillo, Luis Fernando	263, 289, 290, 291, 292
Roder , Giulia	315
Rodicio Rodicio, M. Rosario	179
Rodón Aldrufeu, Jordi	309
Rodrigo Tárrega, Guillermo	206
Rodríguez , Julian	151
Rodríguez Arcos, Rocío	326
Rodríguez Bejarano, Eduardo	74
Rodríguez Concepción, Manuel	205
Rodríguez Fernández, Vicente	323, 325
Rodríguez Figueredo, María Victoria	151
Rodríguez González, Álvaro	204
Rodríguez Hervá, José Juan	67, 215
Rodríguez Jurado, Dolores	155, 156
Rodríguez Molina, María Del Carmen	200, 238
Rodríguez Navarro, Dulce Nombre	196
Rodríguez Negrete, Edgar Antonio	74
Rodríguez Padrón, Cristina	149, 209
Rodríguez Palenzuela, Pablo	215
Rodríguez Pérez, Ana	149
Rodríguez Pires, Silvia	126, 170
Rojas-Martínez Martínez, Reyna	235

Romeralo Tapia, Carmen	308
Romero , Joaquín	231, 233, 259, 260, 288, 289, 290, 291, 292
Romero Hinojosa, Diego	64, 230, 264
Romero Martín, María Ángeles	134
Ros Ibañez, Caridad	200, 202, 203
Ros Muñoz, Margarita	241
Rosado Pérez, Aranzazu	206
Roselló , Josep	304, 306, 348
Roselló Prados, Gemma	121
Rossi , Vittorio	274, 289
Roskopf , Erin	238
Roudet , Jean	123
Ruano Rosa, David	178
Rubio Miguélez, Luis	199, 300
Rubio Pérez, María Belén	108
Rueda Blanco, Javier	294
Rufián , Jose S.	84, 294
Ruiz , Juan Antonio	151
Ruiz Albert, Javier	84, 294
Ruiz De La Hermosa , Teresa	118
Ruiz Ferrer, Virginia	72
Ruiz García, Ana Belén	175, 176, 177
Ruíz Rodríguez, Alicia	151, 186
Ruz Estévez, Lidia	83, 122, 262
Sabaté Rabella, Jordi	309, 310, 311, 317, 333
Sabuquillo Castrillo, Pilar	191
Sacristán Benayas, Soledad	147
Sacristán Pérez-Minayo, Gonzalo	338, 339
Saézn , Daniel	61
Sáez Sánchez, Cristina	106, 199, 242
Sainz Osés, María Jesús	255, 307
Salcedo Larralde, Isabel	153, 154
Sales , Ester	185
Sampedro , Maria Del Carmen	342
San Juan , Javier	168
San Martín Fernández, Roberto	327, 341
Sanchez , Fulgencio	200, 203
Sánchez Campos, Sonia	137
Sánchez Del Valle, David	225
Sanchez López, Cristobal	241
Sanchez Lopez, Elena	203
Sánchez Navarro, Jesús Ángel	100, 235, 298
Sánchez Romero, María A.	84
Sanchez Solana, Fulgencio	203
Sánchez Torres, Paloma	148
Sanchez Zabala, Joseba	153, 154, 347
Sánchez-Pina , María Amelia	71, 320

Sancho , Rosa	118
Sanjuán , Susana	265, 266
Santa-Bárbara , Ana	290
Santamaría Becerril, Oscar	160, 308
Santamaría Hernando, Saray	67
Santiago Carrillo, Luis	151, 186
Santiago De Roldán, Ana Del Rosario	238
Santiago Merino, Remedios	177
Santos , Milagrosa	161, 345, 346
Sanz Martín, José María	68, 130
Sanz Ros, Antonio Vicente	341
Saponari , Maria	54, 76
Sarmiento Villamil, Jorge Luis	283
Sempere , Raquel N.	320
Serra , José	304, 306, 348
Serra , M ^a Teresa	334, 335, 337
Serra , Víctor	272
Serra Alfonso, Pedro	97
Serra Landete, Anna	262
Serra Soriano, Marta	228
Serrano , Lidia	295
Serrano , Nicolás	91
Serrano Moral, María Socorro	267
Serrano Perez, Paula	200, 238
Sesmero Carrasco, Rafael	107
Silva , Ana Cláudia	69, 349
Siverio De La Rosa, Felipe	149, 208, 209, 253, 324, 338
Smith , Denise	252
Sobrino Plata, Juan	93
Solla , Alejandro	94
Solsona Aixalà, Cristina	78, 281
Somoano García, Aitor	333
Sorribas Royo, Francisco Javier	124, 142, 295, 319
Souto Rodrigues, Eliezer	212
Stanosz , Glen	252
Suarez Fernández, María Belén	287
Sukno , Serenella A.	68, 130, 131
Suz , Laura M.	162
Taberner Roselló, Verònica	148
Talavera Rubia, Miguel Francisco	195
Tayahi , Monia	293
Tazo , Isabel	61
Teixidó Espasa, Neus	78, 126, 163, 281
Tello Hernández, Vega	131
Tena-Fernández , Fatima	335, 337
Tenllado Peralo, Francisco	46, 103, 104, 207
Teran , Lara	168
Testi , Luca	169

The Ponte Consortium , The Ponte Consortium	322
Thon , Michael R.	68, 130, 141
Tienda Serrano, Sandra	192, 331
Tolosa Almendros, Victor Manuel	236
Tores , Juan Antonio	62
Torres Corcuera, Jeronimo	203
Torres Sanchis, Rosario	78, 281
Torres Trenas, Almudena	96
Trapero , Carlos	91, 296
	82, 145, 229, 231, 233, 246, 248, 259, 260,
Trapero Casas, Antonio	263, 288, 289, 290, 291, 292, 296
Trapero Casas, José Luis	65
Trapiello Vázquez, Estefanía	180
Trask , Tyler	254
Txarterina Urkiri, Kepa	153, 154
Usall Rodié, Josep	78, 167, 281
Vainio , Eeva J.	282, 330, 344
Valdovinos-Ponce Ponce, Guadalupe	235
Vallarino , José G.	104
Valle , Mikel	320
Valverde Corredor, Antonio	107, 178
Valverde-Caballero , Pedro	91
Van Der Vlugt , René	175
Vannini , Andrea	330
Varo , Ángela	246, 248
Varveri , Christina	175
Vasaitis , Rimvydas	330
Vega Macías, Victorino	155
Vela Delgado, María Dolores	195, 197
Velasco Arjona, Leonardo	99, 245, 261, 268, 275, 340
Veloso , Javier	110, 132, 217, 218, 226
Verdejo Lucas, Soledad	195
Vettraino , Anna Maria	330
Vicent Civera, Antonio	113, 146, 213
Vida Hinojosa, Carmen	89, 192
Vidal , Abel	269
Vidal Izquierdo, Eduardo	176
Villarino Perez, Maria	168, 244
Viruega , José Ramón	289
Wetzel , Thierry	179
Wierzbicki , Andrzej	72
Woodward , Steve	247
Wyka , Stephen	128
Zamora Ballesteros, Cristina	329
Zamora Brauweiler, Paula	323, 325, 327
Zamora Macorra, Erika Janet	73, 235
Zanon , Maria Jesus	202
Zumaquero Jiménez, Adela	74
Zúñiga Rodríguez, Erick	229

PATROCINADORES

SPONSOR B



SPONSOR C



COLABORAN

