

OPTIMIZACIÓN DE LA DETECCIÓN MOLECULAR DE *Xylella fastidiosa* PARA PROSPECCIONES A GRAN ESCALA

Barbé, S.; Ouertani, K.; Gorris, M. T.; Navarro, I.; Morán, F.; Monterde, A.; López, M. M.; Marco-Noales, E.
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) (barbe_sil@gva.es)

Tras la declaración oficial en 2013 del primer brote en Europa de *Xylella fastidiosa*, en Italia, se establecieron controles en los países de la UE para la detección precoz de dicho patógeno en plantas potencialmente hospedadoras y en los principales vectores. Estos controles incluyen prospecciones periódicas a gran escala, que conllevan el procesado y análisis de un gran número de muestras en el menor tiempo posible, para tomar las medidas correspondientes en caso de resultar positivas, por lo que es fundamental que las técnicas de detección empleadas sean sencillas, rápidas, sensibles y específicas y que, a su vez, tengan un coste asumible.

Con el fin de optimizar el protocolo de detección, se han ensayado tres técnicas de procesado y análisis de las muestras en diferentes matrices vegetales a las que se añadieron distintas concentraciones de *X. fastidiosa*: fijación del extracto vegetal en membrana (*spots*), impresión directa de peciolo sobre membrana, y extracción de ADN genómico siguiendo el protocolo CTAB. Con las tres técnicas se ha procesado también una selección de muestras naturalmente infectadas por *X. fastidiosa* para ser analizadas posteriormente por el método de PCR en tiempo real (Harper *et al.*, 2010 y *erratum*, 2013), considerado como el más sensible para esta bacteria (EPPO, 2016).

El objetivo de estos análisis es poner a punto la impresión de peciolo de hojas de distintas especies, para facilitar la detección molecular a gran escala mediante un primer cribado rápido y fiable del material vegetal, sin recurrir a la extracción de ADN. Con este método únicamente sería necesario realizar un ulterior procesado (con extracción de ADN) en las muestras que resultasen negativas. Una ventaja añadida de esta técnica es que la impresión podría realizarse *in situ* el personal encargado de prospecciones rutinarias de los servicios de sanidad vegetal u otros organismos, evitando el transporte de material potencialmente infectado.

En el trabajo se exponen los resultados obtenidos con muestras de diferentes huéspedes, tanto inoculadas como naturalmente infectadas, centrándose principalmente en almendro, por ser el único hospedador en el que, al menos hasta el momento, se ha detectado *X. fastidiosa* en la Comunidad Valenciana.