

Diagnóstico, epidemiología y control de bacterias patógenas de plantas en el IVIA

ESTER MARCO-NOALES¹, SILVIA BARBÉ¹, FÉLIX MORÁN¹, MARÍA LUISA DOMINGO-CALAP^{1,2}, IRENE LOZANO¹, ADELA MONTERDE¹, INMACULADA NAVARRO¹, MIRIAM SIMÓ-ESQUIVEL^{1,2}, NEREA VERCHER¹

¹Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Moncada (Valencia)

²Tragsa, Empresa de Transformación Agraria, Delegación de Valencia

✉ marco_est@gva.es



Foto del grupo. De izquierda a derecha: Félix Morán, Irene Lozano, Nerea Vercher, Miriam Simó-Esquivel, María Luisa Domingo-Calap, Ester Marco-Noales, Inmaculada Navarro, Adela Monterde y Silvia Barbé.

Historia

El actual grupo de Bacterias Fitopatógenas del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), liderado por la Dra. Ester Marco-Noales, es heredero, desde 2017, del grupo fundado por la Dra. María Milagros López, pionera en España del estudio de las bacterias fitopatógenas. Parte de sus miembros tienen sus raíces

en aquel grupo y poseen una dilatada trayectoria y una contrastada experiencia. La incorporación de nuevos miembros ha supuesto un refuerzo en líneas ya iniciadas y la apertura de otras nuevas. En este momento el equipo consta de cuatro investigadores, cuatro técnicos y una becaria en formación, a los que se unen temporalmente diversos estudiantes en prácticas y de trabajos de fin de Grado o

Máster. A lo largo de estos cinco últimos años hemos participado en seis proyectos de investigación competitivos, cuatro de ellos europeos, en aspectos transversales de diagnóstico, epidemiología y control de tres patosistemas bacterianos prioritarios para la cuenca mediterránea: las enfermedades causadas por *Xylella fastidiosa*, el Huanglongbing (HLB) de los cítricos asociado a especies de 'Candidatus Liberi-

bacter' y el fuego bacteriano producido por *Erwinia amylovora*. Nuestra actividad está enriquecida por colaboraciones con diversos grupos españoles e internacionales. Y, además, seguimos teniendo una línea de trabajo como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de Bacterias Fitopatógenas del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Líneas de investigación

La presencia de focos activos de *X. fastidiosa* en España hace que nuestra línea en esta bacteria se diversifique en distintos aspectos. Hemos demostrado que *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* es el agente causal del chamuscado foliar del almendro en Alicante (Marco-Noales *et al.*, 2021), y disponemos de una colección de cepas de allí y de Baleares, aisladas por nosotros, que estamos caracterizando con el fin de aportar más información sobre el origen y la evolución de los brotes. Además, estamos estudiando la gama de hospedadores de estas cepas con ensayos de patogenicidad en más de 25 variedades de especies vegetales como almendro, olivo, vid y diferentes cítricos, entre otras, con un seguimiento periódico de síntomas y monitorizando la presencia de la bacteria. Estamos evaluando también la eficacia de las medidas de erradicación en Alicante mediante análisis de plantas forestales y de insectos vectores de varias zonas del foco, teniendo en cuenta parámetros como la incidencia inicial de infección en la zona, el uso del suelo o la época de muestreo. Y en el ámbito de las estrategias de control, hemos aislado ya más de 50 bacteriófagos frente a diferentes cepas de *Xanthomonas* spp., de los cuales se han seleccionado cuatro, por el momento, con fuerte actividad lítica frente a *X. fastidiosa*, que se están caracterizando fenotípica y genómicamente.

En cuanto al patosistema del fuego bacteriano, hemos seguido trabajando en diagnóstico, describiendo el peral silvestre, que es una especie amenazada, como nuevo hospedador de *E. amylovora* (Marco-Noales *et al.*, 2017). Actualmente, estamos explorando una selección de bacterias aisladas de material vegetal y suelo con potencial de biocontrol, y hemos gene-

rado una colección de más de 100 bacterias, que se han ensayado *in vitro* y *ex vivo* frente a *E. amylovora* con resultados muy prometedores (Barbé *et al.*, 2022), incluso para otras especies de bacterias fitopatógenas.

Respecto a la enfermedad del HLB, nos hemos centrado por ahora en aspectos de diagnóstico (Morán *et al.*, 2021), mediante el desarrollo de herramientas de fácil manejo y bajo coste, de tal forma que puedan ser aplicadas de manera sencilla y rápida, incluso en campo. Así, hemos diseñado y puesto a punto nuevos protocolos de PCR y técnicas de amplificación isoterma para la detección de 'Ca. Liberibacter' spp., realizando una validación de acuerdo a las directrices de la *European Plant Protection Organization*. La Comisión Europea, a través del programa *Innovation Radar*, ha seleccionado un kit de detección de HLB que estamos desarrollando como una innovación con un altísimo potencial (<https://www.innoradar.eu/innovation/38305>).

Como LNR, seguimos brindando asesoramiento y apoyo técnico a los diferentes laboratorios de Sanidad Vegetal de las Comunidades Autónomas, realizando talleres teórico-prácticos y actuando como primera línea defensiva en los Puntos de Control en Frontera. Mantenemos desde 2016 varios ensayos acreditados por ENAC (Entidad Nacional de Acreditación), y estamos trabajando para ampliar el alcance de esta acreditación como garantía de la labor que realizamos. Además, hemos comenzado la aplicación de técnicas de secuenciación masiva con diversos fines. Empleamos tecnologías de secuenciación de ácidos nucleicos de alto rendimiento (*high throughput sequencing* – HTS o *next generation sequencing* – NGS) para escrutar el microbioma que habita en plantas con desórdenes vegetativos. Estas nuevas herramientas nos permiten ensamblar, mediante aplicaciones bioinformáticas, multitud de secuencias nucleotídicas y recuperar genomas de organismos que son desconocidos hasta ahora. Desde este enfoque, en paralelo con técnicas microbiológicas convencionales, estamos abordando la enfermedad de etiología desconocida llamada chancro espumoso del almendro (*foamy canker*).

Líneas de futuro

Vamos a seguir avanzando en las distintas líneas descritas, que son transversales a los diferentes patosistemas, con las peculiaridades propias de cada uno de ellos. Nuestro objetivo final es conocer mejor las enfermedades bacterianas para poder prevenirlas y controlarlas, contribuyendo a una mejor gestión integrada de las mismas.

Bibliografía

- ▶ Barbé S, Figàs-Segura À, Benada M, Navarro-Herrero I, Sampaio TM, Biosca EG, Marco-Noales E. (2022). Plant-associated microbiota as a source of antagonistic bacteria against the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *Environ Microbiol Rep.* <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13064>.
- ▶ Marco-Noales E, Barbé S, Monterde A, Navarro I, Ferrer A, Dalmau V, Aure CM, Domingo-Calap ML, Landa BB, Roselló M. (2021). Evidence that *Xylella fastidiosa* is the causal agent of almond leaf scorch disease in Alicante, mainland Spain (Iberian Peninsula). *Plant Dis* 105:11, 3349-3352. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0625-SC>.
- ▶ Marco-Noales E, Peñalver J, Navarro I, Gorris MT, Morente MC, Balguerías C, Ramírez JA, Recio C, Ruiz de la Hermosa T, Sancho R, Aedo C, López MM. (2017). Iberian wild pear (*Pyrus bourgaeana*) is a new host of *Erwinia amylovora*, the causal agent of fire blight. *Plant Dis* 101 (3): 502. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1251-PDN>.
- ▶ Morán F, Barbé S, Bastin S, Navarro I, Bertolini E, López MM, Hernández-Suárez E, Urbaneja A, Tena A, Siverio F, Marco-Noales E. (2021). The challenge of environmental samples for PCR detection of phytopathogenic bacteria: A case study of citrus huanglongbing disease. *Agronomy* 11 (1): 10. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010010>.