

<b>ÍNDICE</b>	<b>Página</b>
Resumen .....	1
Summary .....	2
Siglas y abreviaturas más utilizadas .....	3

## **INTRODUCCIÓN**

I.1. Historia de la enfermedad .....	4
I.2. Distribución geográfica .....	5
I.3. Distribución geográfica de la enfermedad en España .....	6
I.4. Posición taxonómica .....	8
I.5. Caracterización de <i>X. ampelinus</i> .....	9
I.5.1. Caracteres morfológicos, bioquímicos y fisiológicos .....	9
I.5.2. Serología .....	11
I.5.3. Caracterización molecular .....	12
I.5.4. Electroforesis de proteínas .....	12
I.5.5. Bacteriófagos .....	13
I.5.6. Poder patógeno .....	13
I.6. Síntomas y daños .....	13
I.7. Ciclo biológico .....	20
I.8. Factores favorables .....	21
I.9. Fuentes de inóculo .....	23
I.10. Transmisión y diseminación .....	23
I.11. Técnicas de detección, diagnóstico y caracterización .....	25
I.12. Sensibilidad varietal .....	27
I.13. Control .....	29
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>34</b>

**Capítulo 1.- Comparación de la eficiencia de distintos tipos de inmunoensayo ELISA, utilizando anticuerpos monoclonales, para la detección de *Xylophilus ampelinus* en material vegetal.**

1.1. Introducción .....	36
1.2. Material y métodos .....	37
1.2.1. Cepas bacterianas .....	37
1.2.2. Material vegetal y su preparación para análisis .....	38
1.2.3. Tampones de extracción .....	38
1.2.4. Tipos y variantes de ELISA .....	40
1.2.4.1. ELISA indirecto convencional (ELISA-I), E1 .....	41
1.2.4.2. ELISA indirecto biotina/estreptoavidina (ELISA-I-b/sa), E2 .....	43
1.2.4.3. ELISA doble sandwich de anticuerpos indirecto convencional (ELISA-DASI), E3 .....	43
1.2.4.4. ELISA doble sandwich de anticuerpos indirecto biotina/ estreptoavidina (ELISA-DASI-b/sa), E4 .....	44
1.2.4.5. ELISA doble sandwich de anticuerpos biotina/estreptoavidina (ELISA-DAS-b/sa), E5 .....	45
1.2.5. Condiciones de comparación .....	45
1.2.6. Análisis estadístico .....	46
1.3. Resultados .....	48
1.4. Discusión .....	60
1.5. Conclusión .....	65

**Capítulo 2.- Comparación de la eficiencia del aislamiento y de diferentes métodos de detección serológica de *Xylophilus ampelinus*, en material vegetal naturalmente infectado.**

2.1. Introducción .....	66
2.2. Material y métodos .....	67
2.2.1. Material vegetal .....	67
2.2.2. Cepas bacterianas .....	70
2.2.3. Métodos de análisis .....	70
2.2.3.1. Técnica ELISA-DASI-b/sa .....	70
2.2.3.2. Inmunofluorescencia indirecta (IF) .....	71

2.2.3.3. Inmunoimpresión indirecta ELISA (II) .....	73
2.2.3.4. Aislamientos y caracterización bioquímica .....	75
2.3. Resultados .....	75
2.4. Discusión .....	81
2.5. Conclusiones .....	86

**Capítulo 3.- Puesta a punto del lavado interno de sarmientos para la extracción de *Xylophilus ampelinus* y su detección mediante técnicas serológicas. Comparación con otros métodos.**

3.1. Introducción .....	87
3.2. Material y métodos .....	88
3.2.1. Material vegetal .....	88
3.2.2. Descripción del método de lavado interno del sarmiento .....	90
3.2.3. Métodos de extracción .....	90
3.2.4. Métodos de análisis serológico .....	93
3.2.4.1. Técnica ELISA-DASI-b/sa .....	93
3.2.4.2. Inmunofluorescencia indirecta (IF) .....	94
3.2.5. Métodos de análisis estadístico .....	95
3.3. Resultados y discusión .....	96
3.4. Conclusiones .....	110

**Capítulo 4.- Incidencia de *Xylophilus ampelinus* en las denominaciones de origen Campo de Borja (Zaragoza) y Somontano (Huesca). Distribución espacial de la bacteria en una viña de Tabuenca (Zaragoza).**

4.1. Introducción .....	112
4.2. Material y métodos .....	113
4.2.1. Zonas de prospección .....	113
4.2.1.1. Características de la denominación de origen Campo de Borja .....	114
4.2.1.2. Características de la denominación de origen Somontano .....	116
4.2.1.3. Características de la viña de Tabuenca (Zaragoza) .....	118
4.2.2. Diseño de las prospecciones .....	118

4.2.2.1. Prospección en las denominación de origen Campo de Borja y Somontano .....	119
4.2.2.2. Prospección en la viña de Tabuena .....	119
4.2.3. Métodos de análisis .....	122
4.2.3.1. Técnica ELISA-DASI .....	122
4.2.3.2. Otras técnicas utilizadas .....	122
4.2.4. Análisis estadístico de la dispersión de la enfermedad .....	123
4.3. Resultados .....	125
4.3.1. Resultados de la prospección en la denominación de origen Campo de Borja y Somontano .....	125
4.3.2. Distribución de la enfermedad en la parcela de Tabuena .....	134
4.4. Discusión .....	141
4.5. Conclusiones .....	144

**Capítulo 5.- Sensibilidad a la necrosis bacteriana de la vid de tres patrones y 19 variedades de vid cultivadas en diferentes zonas españolas.**

5.1. Introducción .....	146
5.2. Material y métodos .....	147
5.2.1. Localización y características de la parcela .....	147
5.2.2. Material vegetal .....	148
5.2.3. Cultivos bacterianos .....	150
5.2.4. Inoculación .....	150
5.2.5. Observación de síntomas e índices de clasificación .....	150
5.2.6. Pluviometría registrada .....	152
5.3. Resultados .....	152
5.4. Discusión .....	166
5.5. Conclusiones .....	169
<b>DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>170</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>174</b>