

<b>1. CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
1.1. LA AGRICULTURA EN ESPAÑA	3
1.2. VIROSIS EN CULTIVOS AGRÍCOLAS	3
1.3. CONTROL DE LAS VIROSIS	5
1.3.1. Métodos indirectos de control de virosis	5
1.3.1.1. Utilización de material propagativo libre de virus	5
1.3.1.2. Erradicación	5
1.3.1.3. Control de vectores	6
1.3.1.4. Prácticas agronómicas	7
1.3.2. Métodos directos de control de virosis	7
1.3.2.1. Protección cruzada o preinmunización	7
1.3.2.2. Mejora genética tradicional	7
1.3.2.3. Técnicas de ingeniería genética	8
1.3.2.4. Adición de sustancias que estimulen el sistema defensivo vegetal	9
1.4. DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE VIRUS	9
1.4.1. Observación de síntomas	10
1.4.2. Observación al microscopio	10
1.4.3. Detección de proteínas virales	10
1.4.4. Detección de los ácidos nucleicos virales	10
1.4.4.1. Análisis electroforético	10
1.4.4.2. Hibridación molecular	11
1.4.4.3. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	11
1.4.5. Métodos de diferenciación	12
1.4.5.1. Análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción del genoma (RFLP)	13
1.4.5.2. Análisis del polimorfismo de conformación del DNA monocatenario	13
1.4.5.3. Análisis de la protección frente a RNasas	13
1.4.6. Técnica de secuenciación	13
1.5. FABAVIRUS	13
1.5.1. Taxonomía, características generales y organización genómica	13
1.5.2. Características biológicas	16
1.5.3. Problemática, distribución, diagnóstico y control	17
1.6. OBJETIVOS	25
<b>2. CAPÍTULO 2. DETERMINACIÓN DE LA SECUENCIA COMPLETA DE UN AISLADO ESPAÑOL DEL VIRUS DE LA MARCHITEZ DEL HABA 1 (BBWV-1) Y COMPARACIÓN CON OTROS AISLADOS DEL GÉNERO <i>FABAVIRUS</i></b>	<b>29</b>
2.1. ANTECEDENTES	29
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	30
2.2.1. Origen del aislado viral	30

2.2.2. Purificación de ácidos nucleicos de BBWV-1	30
2.2.3. Retrotranscripción y amplificación de cDNAs complementarios (cDNAs) al RNA genómico del aislado 1S1 de BBWV-1	31
2.2.4. Análisis de las secuencias	33
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
2.3.1. Secuencia nucleotídica y organización genómica del RNA1 y del RNA2 del aislado 1S1 de BBWV-1	35
<b>CAPÍTULO 3. ESTIMACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DEL GÉNERO <i>FABAVIRUS</i></b>	<b>43</b>
3.1. ANTECEDENTES	43
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	44
3.2.1. Aislados virales	44
3.2.2. Determinación de las secuencias nucleotídicas	46
3.2.3. Análisis de secuencias	47
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.3.1. Relación filogenética del género <i>Fabavirus</i>	49
3.3.2. Variación genética del género <i>Fabavirus</i>	51
3.3.3. Estimación de la estructura y diversidad genética de la población viral en España	52
3.3.4. Epidemiología molecular. Flujo genético	55
3.3.5. Presión de selección	58
3.3.6. Intercambio genético entre variantes divergentes	60
<b>CAPÍTULO 4. DESARROLLO DE NUEVAS TÉCNICAS MOLECULARES DE DIAGNÓSTICO DEL GÉNERO <i>FABAVIRUS</i></b>	<b>67</b>
4.1. ANTECEDENTES	67
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	67
4.2.1. Aislados virales y material vegetal	67
4.2.2. ELISA	68
4.2.3. RT-PCR	68
4.2.4. Hibridación molecular	69
4.2.5. Análisis de secuencias	69
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	70
4.3.1. Puesta a punto y evaluación de las técnicas de detección	70
4.3.1.1. Evaluación de la sensibilidad	70
4.3.1.2. Selección del material vegetal más adecuado para la detección de BBWV-1 por métodos serológicos, RT-PCR e hibridación molecular	71
4.3.1.3. Detección comparativa en diferentes huéspedes	74
4.3.2. Detección e identificación de especies del género <i>Fabavirus</i> mediante RT-PCR	74
4.3.3. Detección de aislados de BBWV-1 y BBWV-2 mediante hibridación molecular	78

<b>CAPÍTULO 5. EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DE BTH PARA EL CONTROL DELA INFECCIÓN VIRAL</b>	<b>83</b>
5.1. ANTECEDENTES	83
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	85
5.2.1. Aislados virales y material y vegetal	85
5.2.2. Aplicación de BTH	85
5.2.3. Detección del virus	85
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	85
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>91</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>95</b>