

Resumen

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* es el agente causal de la mancha bacteriana de los frutales de hueso, el almendro y especies ornamentales del género *Prunus*. Este patógeno constituye una de las mayores amenazas para estas especies debido a las pérdidas económicas que genera, por lo que está considerado como un organismo de cuarentena en la Unión Europea (UE). Se han descrito numerosos brotes en países miembros de la UE en los últimos años y entre ellos en España, donde ha sido detectada la bacteria en siete Comunidades Autónomas.

Ante la importancia de esta enfermedad emergente y la carencia de información sobre la misma, en este trabajo se han abordado aspectos relacionados con su diagnóstico y epidemiología que permitirán ampliar nuestro conocimiento sobre ella. Además, también se ha realizado la caracterización taxonómica de tres cepas atípicas de *Xanthomonas* aisladas de nectarino, que causan síntomas similares a los producidos por *X. arboricola* pv. *pruni*.

En primer lugar, se ha desarrollado un prototipo de tiras inmunológicas de flujo lateral para el diagnóstico de la mancha bacteriana. Para su diseño, se partió de dos anticuerpos policlonales que se combinaron con nanopartículas de carbono y se ensamblaron en membranas de nitrocelulosa. Se analizó la especificidad de las tiras, obteniendo resultado positivo con todas las cepas de *X. arboricola* pv. *pruni* ensayadas. El límite de detección obtenido con las tiras de flujo lateral fue de 10^4 UFC/ml, que es suficiente para la detección de esta bacteria en muestras sintomáticas. Para comprobar su fiabilidad y precisión, el prototipo desarrollado se utilizó en el análisis de muestras de campo naturalmente infectadas y muestras sanas, y los resultados se compararon con los obtenidos en el aislamiento en medio de cultivo y los de PCR en tiempo real, observándose una elevada correlación entre las tres técnicas.

En segundo lugar, como *X. arboricola* pv. *pruni* se detectó por primera vez en España en 2002, y desde entonces se han producido brotes de la enfermedad en 11 provincias, se consideró de interés estudiar las relaciones existentes entre una colección de 239 cepas españolas de esta bacteria procedentes de viveros, plantaciones e intercepciones, con la técnica del "Multilocus Variable Number of Tandem Repeat Analysis" (MLVA). Se demostró su gran poder de resolución ya que permitió clasificar las cepas en 18 grupos genéticos. Los resultados obtenidos sugieren que en España se han producido múltiples introducciones de la bacteria, y que los viveros han jugado un papel importante en la introducción y diseminación del patógeno a través de la comercialización de material vegetal contaminado.

Por último, se analizaron fenotípica y molecularmente tres cepas aisladas en nectarinos de la provincia de Murcia, que mostraban síntomas similares a los causados por *X. arboricola* pv. *pruni*. Los primeros análisis basados en test bioquímicos y PCR resultaron negativos para este patógeno. Por tanto, se ha llevado a cabo la caracterización taxonómica de dichos aislados a través de un estudio polifásico, comparándolos con cepas de referencia de otras especies de *Xanthomonas*. Además, se realizaron inoculaciones que confirmaron la patogenicidad de las cepas. Los resultados obtenidos han permitido clasificar estas cepas como una nueva especie del género *Xanthomonas*, para la que se ha propuesto el nombre de *Xanthomonas prunicola* y para la que se han definido sus características diferenciales de las otras especies de este género.

Los trabajos presentados en esta memoria han aportado un nuevo método rápido de diagnóstico in situ de la mancha bacteriana, el desarrollo una nueva metodología para la evaluación de la diversidad genética de una selección de cepas españolas de *X. arboricola* pv. *pruni*, así como la descripción de una nueva especie de *Xanthomonas* que afecta a nectarino.