

# Presencia de plásmidos pEA29 y pEI70 en nuevos brotes de *Erwinia amylovora* en la Comunidad Valenciana y en Aragón

Palacio-Bielsa, A.<sup>1</sup>, Roselló, M.<sup>2</sup>, Cambra, M. A.<sup>3</sup>, Berruete, I. M.<sup>1</sup>, Collados, R.<sup>3</sup>, Palazón, M. L.<sup>3</sup>, Peñalver, J.<sup>4</sup>, Navarro, I.<sup>4</sup>, López, M. M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Zaragoza. E-mail: apalaciob@aragon.es

<sup>2</sup>Laboratorio del Servicio de Análisis Agroalimentario. Generalitat Valenciana. Silla, Valencia

<sup>3</sup>Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Zaragoza

<sup>4</sup>Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias. Moncada, Valencia



## INTRODUCCIÓN

Se ha analizado la presencia de los plásmidos pEA29 y pEI70 en 160 cepas de cinco brotes de fuego bacteriano, identificados en la C. Valenciana y en Aragón en 2011 y 2012. Además, se han realizado estudios de variabilidad de una selección de cepas de *Erwinia amylovora* de la C. Valenciana, mediante RAPD y AFLP.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se han estudiado cepas de *E. amylovora* de los siguientes brotes de fuego bacteriano:

- ❖ Brote en la C. Valenciana (Villena, Alicante) en 2011. Se han analizado 80 cepas de peral, membrillero, manzano y níspero de nueve parcelas.
- ❖ Brotes en Aragón: comarca Comunidad de Calatayud (Zaragoza) en 2011, analizando 47 cepas de peral, membrillero y *Crataegus* sp. de 35 parcelas en 14 localidades; tres brotes en 2012: comarca Valdejalón (Zaragoza), estudiando nueve cepas de peral de siete parcelas en dos localidades; comarca Cinca Medio (Huesca), analizando cinco cepas de peral de dos parcelas en una localidad; comarca La Litera (Huesca), estudiando 19 cepas de peral de 11 parcelas en dos localidades.

Caracterización molecular de cepas de *E. amylovora*:

- Análisis de presencia de pEA29 y pEI70 de todas las cepas mediante un protocolo de PCR dúplex (Llop *et al.*, 2011).
- Random amplified polymorphic analysis DNA (RAPD). Se ha analizado una selección de 17 cepas representativas de la C. Valenciana, utilizando iniciadores no publicados, mediante Variable-Number Tandem-Repeat (VNTR3F / VNTR3R).
- Amplified fragment length polymorphism analysis (AFLP). Se ha analizado una selección de 15 cepas representativas de la C. Valenciana mediante un protocolo estándar.

## RESULTADOS

- Las cepas de *E. amylovora* de la C. Valenciana, Valdejalón y La Litera contienen pEA29, pero ninguna de ellas posee pEI70 (Tabla 1) (Figs. 1 y 2).
- Todas las cepas del brote de Calatayud poseen pEA29 y 27 de ellas contienen también pEI70. Se han identificado cepas de *E. amylovora* con y sin pEI70 tanto en distintas parcelas, como en un mismo árbol. Todas las cepas del brote del Cinca Medio contienen pEI70 (Tabla 1) (Fig. 2).
- No se observan diferencias entre las cepas de la C. Valenciana mediante RAPD y AFLP (Figs. 3 y 4).

Tabla 1. Presencia de pEA29 y pEI70 en los brotes de la C. Valenciana y Aragón

	Nº cepas positivas/Nº cepas totales	
	pEA29	pEI70
C. Valenciana	80/80	0/80
Calatayud (Zaragoza)	47/47	27/47
Cinca Medio (Huesca)	5/5	5/5
Valdejalón (Zaragoza)	9/9	0/9
La Litera (Huesca)	19/19	0/19

Figura 3. RAPD de cepas de *E. amylovora* del brote de la C. Valenciana (iniciadores VNTR3R). M, Marcador; Líneas 1 a 8 y 9 a 17, cepas de nueve parcelas

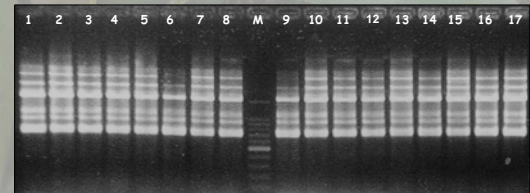


Figura 4. AFLP de cepas de *E. amylovora* del brote de la C. Valenciana. Línea 14, control positivo; Líneas 1 a 13, 15 y 16, cepas de nueve parcelas.



Figura 1. PCR dúplex de cepas de *E. amylovora* del brote de la C. Valenciana. M, Marcador; Líneas 1 a 4, controles negativos; Líneas 12 a 14, controles positivos; Líneas 5 a 11, cepas de cuatro parcelas.

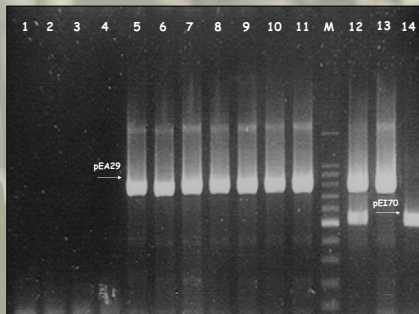
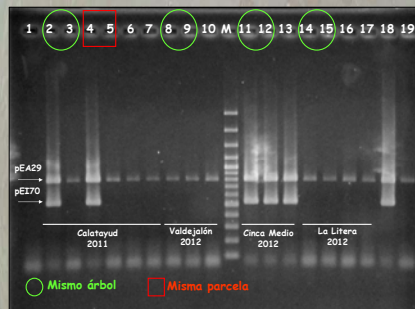


Figura 2. PCR dúplex de cepas de *E. amylovora* de los brotes de Aragón. M, Marcador; Línea 1, control negativo; Líneas 18 y 19, controles positivos; Líneas 2 a 10 y 11 a 17, cepas de cuatro brotes.



## CONCLUSIONES

- ✓ La homogeneidad genética de todas las cepas de la C. Valenciana sugiere una única fuente de inóculo.
- ✓ Las diferencias en la presencia de plásmidos de las cepas de Calatayud indicarían que se habría producido más de una introducción de *E. amylovora* en la zona.
- ✓ Los resultados del estudio de plásmidos en cepas de los restantes brotes de Aragón, sugieren una única introducción del patógeno en cada brote.
- ✓ Estos análisis proporcionan información acerca de la biogeografía de *E. amylovora* en la C. Valenciana y en Aragón.