



P-004-01408

DETECCIÓN DE *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* MEDIANTE INMUNOCAPTURA MAGNÉTICA Y PCR EN TIEMPO REAL

Garita-Cambronero J.¹, Ferragud E.¹, Gorris M.T.², López M.M.², Palacio-Bielsa A.³, Cambra M.⁴, Mitidieri M.⁵, Cubero J.¹

- 1) Laboratorio de Bacteriología. Departamento de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid, España
- 2) Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia, España
- 3) Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Zaragoza, España
- 4) Centro de Sanidad y Certificación Vegetal (CSCV), Zaragoza, España
- 5) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (*Xap*), organismo de cuarentena en la Unión Europea, causante de la mancha bacteriana de los frutales de hueso y almendro, fue detectada por primera vez en España en 2002. En el análisis multilocus de secuencias de las cepas españolas de *Xanthomonas* asociadas a esta enfermedad, se han identificado algunas de ellas que no presentaban un patrón típico de *Xap* y que no se consideraron pertenecientes a dicho patovar (denominadas *Xap* “look-a-like”).

En estas cepas, sin embargo, el gen de un transportador tipo ABC, generalmente usado para la identificación de *Xap*, fue amplificado por PCR en tiempo real con cebadores específicos de su secuencia. Por otro lado, en un análisis de efectores de virulencia de los patovares de la especie *X. arboricola* se determinó que un efector de tipo III (*xopE3*) estaba presente únicamente en *Xap*.

Combinando la PCR basada en el transportador ABC para la detección de *Xap* y diseñando cebadores para el gen *xopE3*, se desarrolló un nuevo protocolo de PCR en tiempo real para el diagnóstico de la enfermedad y la detección e identificación de *Xap*. Para evitar el efecto de inhibidores de la PCR, se incluyó un paso previo de separación inmunomagnética con antisueros obtenidos frente a *Xap*.

En este trabajo se presentan los resultados de la selección de los antisueros utilizados en la inmunocaptura, así como los de la sensibilidad y especificidad del protocolo de PCR en tiempo real desarrollado, que resultó apropiada para la detección de *Xap*, ya que amplificaron las 48 cepas ensayadas procedentes de distintos orígenes.

Trabajo financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), proyecto RTA2011-00140-C03-02 y por la Red CYTED FRUT-SAN 112RT0441..