

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE FITOPATOLOGÍA

Boletín informativo

Núm. 57 Marzo 2007

Actividades de los socios

Lourdes Fernández Calvino defendió en Octubre del 2006 en la Universidad Complutense de Madrid la tesis doctoral titulada “*Estudio del proceso de transmisión de potyvirus por pulgones: análisis de la complementariedad de las proteínas implicadas y de la interacción del factor HC-Pro con estructuras del vector*”. La tesis se realizó en el Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Departamento de Biología de Plantas, Grupo Virología Molecular de Plantas, bajo la dirección del Prof. D. López Abella y el Dr. J. J. López-Moya obteniendo la calificación de Sobresaliente *cum laude* por unanimidad.

El 23 de febrero de 2007, **Dolores Fernández Ortuño** leyó en la Universidad de Málaga la tesis doctoral titulada: *Resistencia a estrobilurinas en Podosphaera fusca: Distribución geográfica y bases moleculares*, que obtuvo la calificación de

Sobresaliente *cum laude* por unanimidad del tribunal. La tesis se realizó en el laboratorio de micología de la Estación Experimental La Mayora (CSIC) y en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Málaga, bajo la dirección de Alejandro Pérez García y Juan Antonio Torés.

El 19 de Diciembre de 2006, el doctorando **David Ruano Rosa** defendió su Tesis Doctoral titulada : "*Control biológico , caracterización y detección molecular de Rosellinia necatrix Prill., agente causal de la podredumbre blanca del aguacate*", dirigida por el Dr. Carlos José López Herrera y con la calificación de Sobresaliente *cum laude*. La tesis fue desarrollada en el Instituto de Agricultura Sostenible de Córdoba (CSIC).

Libros

Pests and diseases of potatoes. S. Wale, B. Platt, N. Cattlin. 2007. Elsevier. ISBN: 9780123736703. 64 €

Induced Resistance for Plant Defence. A sustainable approach to crop protection. D. Walters, A. Newton, G. Lyon (eds.). 2007. Blackwell. ISBN: 9781405134477. 154 €.

Mushroom Pest and Disease Control. A Colour Handbook. J. Fletcher, R. Gaze. 2007. Blackwell. ISBN: 9781840760835. 44 €.

Plant Nematodes of Agricultural Importance A Colour Handbook. J. Bridge, J. Starr. 2007. Blackwell. ISBN: 9781840760637. 59 €.

Pests and Diseases of Peas and Beans – Colour Handbook. A. Biddle, N. Cattlin. 2007. Blackwell. ISBN: 9781840760187. 51 €.

Vegetable Diseases. A Colour Handbook. S. Koike, P. Gladders, A. Paulus 2007. Blackwell. ISBN: 9781840760750. 140 €.

Comprehensive and molecular phytopathology. Y. Dyakov, V. Dzhavakhiya, T. Korpela (eds.). 2007. Elsevier. ISBN: 9780444521323. 137 €.

Nitric Oxide in Plant Growth, Development and Stress Physiology. L. Lamattina, J. Polacco (Eds.). 2007. Springer. ISBN: 9783540451280. 119 €.

Publicaciones de la Sociedad Española de Fitopatología

PATOLOGÍA VEGETAL (2 Volúmenes). G. Llácer, M.M. López, A. Trapero, A. Bello (Editores). Mundi Prensa Libros S.A. - Phytoma España. 58.90 €.

<http://www.mundiprensa.com/cgi-bin/nuevas/abrir.asp?ID=L:84-7114-900-1>
http://www.phytoma.com/producto_e0011b.asp

ENFERMEDADES DE LAS CUCURBITÁCEAS EN ESPAÑA
Monografía N° 1. Sociedad Española de Fitopatología. J.R Díaz Ruíz, J. García-Jiménez (Editores). Phytoma-España. 37.60 €.
http://www.phytoma.com/producto_e0010.asp

ENFERMEDADES DE LOS CÍTRICOS
Monografía N° 2. Sociedad Española de Fitopatología. N. Duran-Vila, P. Moreno (Editores). Mundi Prensa Libros S.A. . 28.85 €.
<http://www.mundiprensa.com/cgi-bin/nuevas/abrir.asp?ID=L:84-7114-862-5>

ENFERMEDADES DE LOS FRUTALES DE PEPITA Y HUESO
Monografía N° 3. Sociedad Española de Fitopatología. E. Montesinos, P. Melgarejo, M.A. Cambra, J. Pinochet (Editores). Mundi Prensa Libros S.A. 28.85 €.
<http://www.mundiprensa.com/cgi-bin/nuevas/abrir.asp?ID=L:84-7114-916-8>

Congresos 2007

Resistance 2007. Harpenden, Reino Unido, del 16 al 18 de abril.
<http://www.rothamsted.ac.uk/Research/Resistance2007.html>

17º Symposium Internacional Phytoma-España “Tecnología y sanidad de las frutas y hortalizas en postcosecha. Comercialización y seguridad alimentaria” Valencia, 18 y 19 de abril.
<http://www.phytoma.com/symposiums/17/index.htm>

XIIth International Symposium on Biological Control of Weeds. Montpellier, Francia, del 22 al 27 de abril.
<http://www.cilba.agropolis.fr/symposium2007.html>

28th International Seed Testing Association Congress. Foz do Iguacu, Brasil, del 5 al 11 de mayo de 2007.
<http://www.abrates.org.br/congress/en/index.php>

15th International Symposium on Modern Fungicides and Antifungal Compounds. Friedrichroda, Alemania, del 6 al 10 de mayo.
<http://www.marocafe.de/nina/index.html>

Joint International Workshop on "PR-Proteins" and "Induced Resistance Against Pathogens and Insects". Doorn, Holanda, del 10 al 14 de mayo
<http://www.bio.uu.nl/%7efytopath/PR-IR2007.htm>

XIII Symposium científico-técnico del olivar y aceite de oliva, Expoliva 2007. Jaén, del 16 al 18 de mayo.
http://www.expoliva.com/expoliva2007/ie5_ini.asp

Congreso Latinoamericano y del Caribe de Fitopatología. Riviera Maya, México, del 20 al 24 de mayo.
<http://members.tripod.com/~sociedad/Sociedad.htm>

5th International Geminivirus Symposium & 3rd International comparative ssDNA virology Workshop. Ouro Preto, Brasil, del 20 al 26 de mayo.
<http://www.studium.ppg.br/sites/virologia/index.php?area=scientificprogram>

8th International Symposium on Positive-Strand RNA Viruses. Washington D.C., EE.UU., del 26 al 30 de mayo.
<http://www.virology.wisc.edu/PlusStrand>

Population and Evolutionary Biology of Fungal Symbionts. Ascona, Suiza, del 29 de abril al 4 de mayo.

http://www.path.ethz.ch/news/conferences/2006_ascona

9th World Congress on Parasitic Plants. Charlottesville, EE.UU., del 3 al 7 de junio.

<http://www.cpe.vt.edu/wcopp/>

9th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology - BAGECO 9. Wernigerode, Alemania, del 23 al 27 de junio.

www.conventus.de/bageco9.

XIII International Congress on Molecular Plant-Microbe Interactions. Sorrento, Italia, del 21 al 27 de julio de 2007.

<http://mpmi2007.org>

13th Symposium on insect-plant relationships.

Uppsala, Suecia, del 29 de julio al 2 de agosto de 2007.

<http://www-conference.slu.se/sip13/index.htm>

11th International Workshop on Fire Blight. Portland, Oregon, EE.UU., del 12 al 17 de agosto.

<http://oregonstate.edu/conferences/fireblight2007/>

***Pseudomonas* 2007.** Seattle, EE.UU., del 26 al 30 de agosto.

<http://www.asm.org/Meetings/index.asp?bid=44125>

XVII Reunión Nacional de la Sociedad Española Fisiología Vegetal y X Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal. Alcalá de Henares, del 18 al 21 de septiembre.

<http://www.fv2007.fgua.es/info/info.cfm>

Second International Symposium on Tomato Diseases. Kusadasi, Turquía, del 8 al 12 de octubre. www.2istd.ege.edu.tr/

The 4th International Rice Blast Conference. Changsha, China, del 9 al 14 de octubre.

www.4thirbc.org

2nd Conference on Precision Crop Protection. Bonn, Alemania, del 10 al 12 de octubre.

<http://www.precision-crop-protection.uni-bonn.de>

16th International Plant Protection Congress. Glasgow, Gran Bretaña, del 15 al 18 de Octubre.

<http://www.bcpc.org>

10th International Plant Virus Epidemiology Symposium. "Controlling epidemics of emerging and established plant virus diseases - the way forward."

Hyderabad, India, del 15 al 19 de octubre.

<http://www.ipve2007.net>

XIVth International Botrytis Symposium, Ciudad del Cabo, Sudáfrica, del 21 al 26 de Octubre de 2007.

Email: conf@conferencesetal.co.za

17th Conference, International Organization of Citrus Virologists. Adana, Turquía, del 22 al 26 de octubre.

<http://iocv2007.cu.edu.tr>

International Workshop on Chestnut management in Mediterranean Countries: problems and Prospects. Bursa, Turquía, del 23 al 25 de octubre.

<http://www.chestnut2007turkey.org/>

IOBC/WPRS working group meeting on "Integrated Control in Citrus Fruit Crops".

Catania, Italia, del 5 al 7 de noviembre.

<http://www.iobc-wprs-citruswg.net/>

First International Phytoplasma Working group Meeting. Bolonia, Italia, del 12 al 15 de noviembre.

Bertaccini_a@biblio.cib.unibo.it.

2008

9th International Congress of Plant Pathology. Turín, Italia, del 24 al 29 de Agosto

de 2008. <http://www.icpp2008.org>

Evaluación de la tecnología de interferencia por RNA (RNAi) para el control de las enfermedades virales en cultivos

Cahana, A.¹, Martiáñez, J.², Vargas, M.², Tugentman, M.¹, Yarden, G.¹, Paldi, N.¹, Tenllado, F.² y Díaz-Ruíz, J.R.²

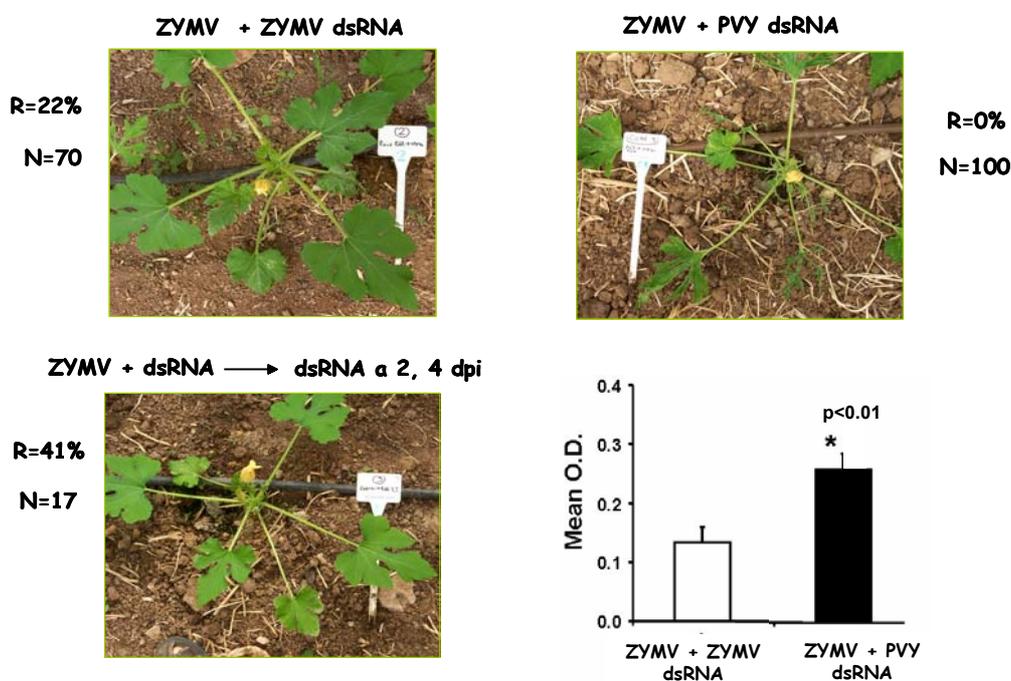
¹Bio-Oz Biotechnologies Ltd., Yad Mordechai, Israel. ²Departamento de Biología de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC. Campus de la Ciudad Universitaria. Ramiro de Maeztu, 9. 28040, Madrid.

La producción agrícola en los países desarrollados se enfrenta con el reto de cubrir las demandas crecientes en la producción de alimentos de calidad, pero con escasas posibilidades de incrementar la superficie cultivada y con una fuerte presión de la opinión pública para preservar el medio ambiente. Esta situación confiere una especial relevancia a la adopción de sistemas de control de plagas y enfermedades que sean económicamente rentables, respetuosos con el entorno y compatibles con los principios del control integrado y de la agricultura sostenible. Los virus de plantas representan uno de los grupos de patógenos más importantes en la naturaleza, causando graves pérdidas económicas en muchas especies de interés agronómico (Hull, 2002). El control de las enfermedades virales presenta graves dificultades, dado que, para la mayoría de los virus, no se han obtenido variedades comerciales con resistencia duradera y estable por procedimientos de mejora genética. Por tanto, una parte de los esfuerzos que se realizan actualmente para el control de las virosis se centran en el estudio de la interacción virus-planta, especialmente los mecanismos de defensa desplegados por las plantas ante las infecciones virales. El objetivo final de estos estudios es el control de las enfermedades mediante el desarrollo de nuevas estrategias dirigidas a interferir con el proceso de infección viral, potenciando los mecanismos de defensa natural de las plantas (Tenllado et al., 2004). Además, el desarrollo de procedimientos biotecnológicos respetuosos con el medio ambiente que impidan la expansión y los efectos negativos producidos por los virus en las cosechas, paliaría en gran medida el uso masivo de plaguicidas empleados en la actualidad para el control de sus insectos vectores.

El silenciamiento génico post-transcripcional es un mecanismo de degradación de RNA específico de secuencia, que constituye un sistema natural de defensa frente a infecciones virales en plantas (Voinnet, 2005). El RNA bicatenario (dsRNA) es un potente inductor de esta respuesta en diversos grupos de organismos (Zamore y Haley, 2005). Previamente hemos demostrado que la aplicación directa en tejido foliar de dsRNA correspondiente a secuencias virales, conjuntamente con el inóculo viral, confiere resistencia frente al virus homólogo (Tenllado y Díaz-Ruíz, 2001). Es más, extractos crudos de dsRNA producidos de manera eficiente y a bajo coste mediante un sistema de expresión inducible en bacterias, presentan esta misma propiedad antiviral (Tenllado et al., 2003). Con vistas a conseguir que esta tecnología de interferencia por RNA (RNAi) constituya un método preventivo para el control de las enfermedades virales en cultivos, se requiere un método de aplicación del dsRNA versátil a escala agronómica. Recientemente, se ha desarrollado un aparato de inoculación por bombardeo de micropartículas que permite introducir en tejidos vegetales diferentes tipos de ácidos nucleicos bajo condiciones de presión y potencia variables (Dumbrovsky et al. 2004). Nuestro grupo, bajo la tutela de la Oficina de Transferencia de Tecnología del CSIC, ha suscrito una Licencia de Patente con Bio-Oz Biotechnologies Ltd., una compañía interesada en aplicar herramientas biotecnológicas respetuosas con el medio ambiente para el control de las virosis. Fruto de este acuerdo, Bio-Oz está llevando a cabo la evaluación de la tecnología de RNAi en condiciones de invernadero y en campo, como paso previo para el posible desarrollo comercial de esta aplicación biotecnológica en la lucha frente a virus. En esta comunicación se presentan resultados preliminares de la evaluación en condiciones agronómicas de la tecnología RNAi frente a dos potyvirus que provocan importantes pérdidas en cultivos de tomate y calabacín.

Se analizó la capacidad de extractos bacterianos que contenían los dsRNAs correspondientes al gen HC-Pro del virus del mosaico amarillo del calabacín (ZYMV) para interferir con la infección de su virus homólogo (ZYMV) en cultivos de calabacín en invernadero. Se ensayaron aplicaciones únicas o múltiples del agente interferente, realizadas al unísono o sucesivamente a la inoculación viral, con objeto de definir el régimen de tratamiento más efectivo para conseguir protección viral. Cuando el tratamiento consistió en el bombardeo conjunto de ZYMV y HC-Pro dsRNA, el 22% de las plantas (n=70) crecieron sin síntomas aparentes de infección viral, comparado con el 100% de plantas (n=100) tratadas con ZYMV más tampón o un dsRNA heterólogo que mostraron síntomas de enfermedad. Más aún, la inoculación conjunta con ZYMV y HC-Pro dsRNA, seguida por el tratamiento con ese dsRNA a 2 y 4 días, consiguió la protección absoluta del 41% de las plantas en un ensayo realizado en paralelo al anterior (Fig. 1). El carácter de fenotipo sano en las plantas tratadas fue verificado hasta la finalización de su ciclo biológico mediante ensayos ELISA realizados a partir de tejidos superiores a los tratados. Estos datos sugieren que aplicaciones sucesivas de dsRNA con posterioridad al bombardeo con ZYMV y dsRNA incrementan la protección respecto a la conferida por una única dosis de dsRNA. La protección conferida por HC-Pro dsRNA frente a ZYMV también fue patente en las plantas sintomáticas, ya que resultó en una bajada significativa del título viral medido mediante ELISA en hojas superiores a 15 días después de la inoculación ($p < 0.01$).

Figura 1

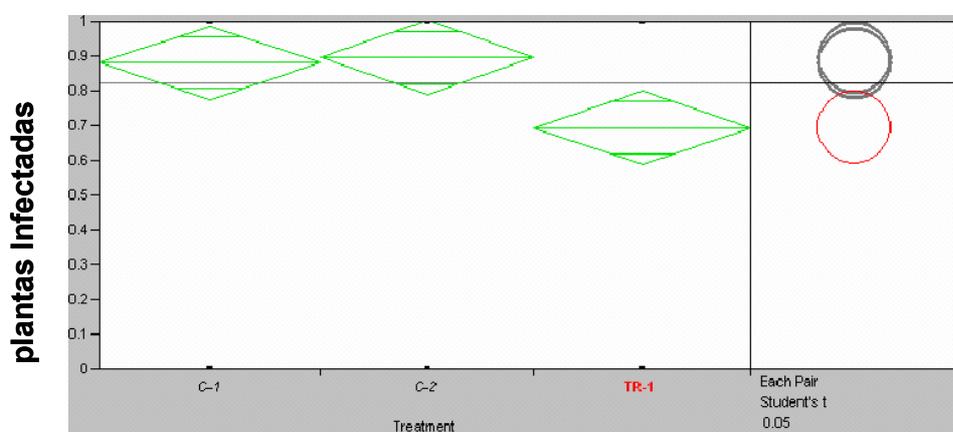


La gran mayoría de los grupos de virus que infectan plantas son transmitidos en la naturaleza a través de insectos vectores. Por tanto, si la tecnología RNAi pretende su implantación como método de control de las enfermedades virales debería demostrar su capacidad de interferir con la principal vía de diseminación de los virus en el campo, esto es, la transmisión vectorial. Para ello, llevamos a cabo tratamientos de plantas de tomate con los dsRNAs correspondientes al gen de la CP del virus Y de la patata (PVY), un virus transmitido por pulgones (*Myzus persicae*). A las 24 hr realizamos sobre las hojas tratadas experimentos de transmisión viral con pulgones, a razón de 10 pulgones por planta mantenidos durante 16 hr, tras lo cual se eliminaron con una solución de Confidur al 0,05%. Los individuos clónicos utilizados en estos ensayos habían sido previamente alimentados durante 10 min en plantas infectadas con PVY tras un periodo de ayuno de 2 hr. En cuatro ensayos espaciados en el tiempo que involucraron a más de 170 plantas, se observó un porcentaje significativo de protección comparado con los grupos control tratados con anterioridad a la inoculación viral con ZYMV dsRNA o con tampón. Así, en uno de estos ensayos se observó que mientras en el grupo de plantas tratadas con el dsRNA protector (PVY dsRNA) un 31% de los individuos no manifestaron síntomas de infección viral confirmado mediante ELISA, tan sólo un 10 y un 12% de las plantas tratadas con el dsRNA control o el tampón no se infectaron (Fig. 2). Estos bajos aunque

prometedores niveles de protección confirman que es posible interferir con el proceso de transmisión de PVY por pulgones utilizando la tecnología RNAi. Actualmente se intenta mejorar el rendimiento de la protección incrementando la cantidad de dsRNA usada en el tratamiento protector, la presión utilizada en el bombardeo de este sobre la planta o bien a través de aplicaciones sucesivas del agente protector.

Figura 2

	Plant num	Infected	Healthy
PVY dsRNA + PVY	TR-1	49	34 (69%) 15 (31%)
Tampón + PVY	C-1	50	44 (88%) 6 (12%)
ZYMV dsRNA + PVY	C-2	48	43 (90%) 5 (10%)



Bibliografía

- Dombrovsky A., Huet H., Chejanovsky N., y Raccah B. 2005. Aphid transmission of a potyvirus depends on suitability of the helper component and the N terminus of the coat protein. *Archives of Virology* 150:287-298.
- Hull, R. 2002. *Mathews' Plant Virology*. 4th ed. Academic Press, London.
- Tenllado, F. y Díaz-Ruiz, J.R. 2001. Double-stranded RNA-mediated interference with plant virus infection. *Journal of Virology* 75:12288-12297.
- Tenllado, F., Martínez-García, B., Vargas, M. y Díaz-Ruiz, J.R., 2003. Crude extracts of bacterially expressed dsRNA can be used to protect plants against virus infections. *BMC Biotechnology*. 3:3.
- Tenllado, F., Llave, C. y Díaz-Ruiz, J.R. 2004. RNA interference as a new biotechnological tool for the control of virus diseases in plants. *Virus Research* 102(1), 85-96.
- Voinnet, O. 2005. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections. *Nature Review Genetics* 6(3), 206-20.
- Zamore, P.D. y Haley, B. 2005 Ribo-gnome: the big world of small RNAs. *Science* 309(5740), 1519

BOLETÍN DE LA SEF

Publicación trimestral

Iñigo Zabalgogeoazcoa, IRNA-CSIC (Salamanca), izabalgo@usal.es
 Jose Luis Palomo, C.R. Diagnóstico (Salamanca), ilpg@usal.es