

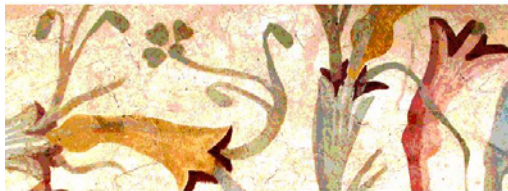
Boletín informativo

Número 62 Junio 2008

Actividades de los socios

La Sociedad Española de Fitopatología afronta su XIV congreso con más de **500** socios, el número más alto de su historia.

XIV CONGRESO



Sociedad Española de Fitopatología

LUGO 2008

El 8 de febrero de 2008 **Mónica Ordax Ibáñez** defendió en el Departamento de Biotecnología de la Universidad Politécnica de Valencia su Tesis Doctoral titulada "*Supervivencia de Erwinia amylovora en condiciones de estrés: influencia de la presencia de cobre y la limitación de nutrientes*", recibiendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. Los directores de tesis fueron María Milagros López González, Ester Marco Noales y Elena González Biosca.

Montserrat Roselló Pérez defendió el 21 de febrero de 2008 en la Universitat de València la Tesis Doctoral titulada "*Detección de bacterias fitopatógenas de cuarentena y caracterización de aislados relacionados, en frutales de la Comunitat Valenciana*" obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La tesis se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico de la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Generalitat Valenciana, en el Laboratorio de Bacteriología del IVIA y en el Departamento de Microbiología y Ecología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universitat de València y fue codirigida por la Dra. María Milagros López González, el Dr. Sergi Ferrer i Soler y el Dr. Pau Llop Pérez.

María Antúnez Lamas defendió el 10 de marzo de 2008 en la Universidad Politécnica de Madrid la Tesis Doctoral titulada "*Papel de la motilidad en la patogénesis de Dickeya dadantii 3937*" obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La tesis fue realizada en el Laboratorio de Biotecnología de la E.T.S. Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Madrid, y dirigida por el Dr. Pablo Rodríguez Palenzuela.

Luis Armando Álvarez Bernaola defendió el 23 de mayo de 2008 en la Universidad Politécnica de Valencia la Tesis Doctoral titulada "*Estudios de etiología, epidemiología y control de un nuevo síndrome de lesiones en tronco y ramas principales de cítricos asociado a Phytophthora citrophthora*" obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La tesis fue realizada en el Laboratorio de Patología Vegetal del Departamento de Ecosistemas Agroforestales de la Universidad Politécnica de Valencia, y dirigida por el Dr. José García Jiménez y la Dra. María Paloma Abad Campos.

Sandra Alaniz Ferro defendió el 18 de junio en la Universidad Politécnica de Valencia la Tesis Doctoral titulada "*Caracterización y control de Cylindrocarpon spp. agente causal del pie negro de la vid*" obteniendo la calificación de Sobresaliente *Cum Laude* por unanimidad. La Tesis fue realizada en el Grupo de Investigación en Hongos Fitopatógenos del Instituto Agroforestal Mediterráneo de la UPV, y dirigida por el Dr. Josep Armengol Fortí y la Dra. Paloma Abad Campos.

GENBLAST es un proyecto de investigación relacionado con la búsqueda de variedades de arroz con resistencia durable a *Pyricularia grisea*. Participan varios grupos españoles y franceses. Mas información en: <http://genblast.com/>

Vídeo y fascículos con motivo del 20 aniversario de Phytoma. Hace 17 años se editó un vídeo con las manifestaciones de destacados profesionales de la Sanidad Vegetal. Ahora, se ha vuelto a recuperar aquel interesante testimonial para ofrecerlo a través de la nueva web de

Phytoma (www.phytoma.com). Al mismo tiempo, coincidiendo con dicho aniversario, con cada número de la revista se entregará un fascículo sobre "*Control biológico de plagas agrícolas*", cuyos editores son J.A. Jacas y A. Urbaneja.

Libros

Plant Virology Protocols. From Viral Sequence to Protein Function. 2ª ed. Methods in Molecular Biology, Vol. 451. Foster G., Johansen E., Hong Y., Nagy P. (Eds.). 2008. Humana Press. ISBN: 978-1588298270. 92,95 €.

Agrobacterium: From Biology to Biotechnology. Tzfira T., Citovsky V. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-0-387-72289-4. 114,95 €.

Encyclopedia of Virology. 3ª edición. W.J. Mahy, M.H.V. Van Regenmortel (Eds.). 2008. 5 vols. Elsevier. ISBN: 978-0-12-373935-3. 960,00 €.

Crop Biosecurity. M.L. Gullino, J. Fletcher, A. Gamliel, J.P. Stack, (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-8477-5. 49,95 €.

RNAi. Design and Application. Methods in Molecular Biology, Vol. 442. Barik S. (Eds.). 2008. Humana Press. ISBN: 978-1-58829-874-4. 79,95 €.

Phytophthora: Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints. M.E. Gallegly, C. Hong. 2008. APS Press. ISBN 978-0-89054-364-1. 53,00 €.

An Anecdotal History of Nematology Webster J.M., Eriksson K. B., McNamara D.G. (Eds.) 2008. Pensoft . ISBN: 9546423246. 40,00 €.

Classical Biological Control of Bemisia tabaci in the United States - A Review of Interagency Research and Implementation. Progress in Biological Control , Vol. 4 Gould J., Hoelmer K., Goolsby J. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-1-4020-6739-6. 119,95 €.

Genomics of Disease. Gustafson J.P., Tayler J., Stacey G. (Eds.). 2008. Springer. ISBN: 978-0-387-76722-2. 99,95 €.

Publicaciones de la Sociedad Española de Fitopatología

PATOLOGÍA VEGETAL (2 Volúmenes). G. Llácer, M.M. López, A. Trapero, A. Bello (Editores). 1996. Mundi Prensa Libros S.A. - Phytoma España. 58,90 €.

ENFERMEDADES DE LAS CUCURBITÁCEAS EN ESPAÑA Monografía N° 1. Sociedad Española de Fitopatología. J.R. Díaz Ruíz, J. García-Jiménez (Editores). 1994. Phytoma-España. 37,60 €.

ENFERMEDADES DE LOS CÍTRICOS Monografía N° 2. Sociedad Española de Fitopatología. N. Duran-Vila, P. Moreno (Editores). 2000. Mundi Prensa Libros S.A. 28,85 €.

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). 2000. Mundi Prensa Libros S.A. 28,85 €.

HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS EN FITOPATOLOGÍA. Pallás V., Escobar C., Rodríguez Palenzuela P., Marcos J.F. (Editores) 2007. Mundi Prensa Libros S.A. 49,00 €.

Más información en:

www.sef.es/sef/index.jsp?pag=publicaciones

Congresos

Plant-Microbial Interactions 2008. Cracovia, Polonia. 2-6 Julio 2008.

<http://www.pmi2008.org/>

17th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. Brasov, Rumanía. 6-10 Julio 2008.

<http://www.eapr2008-brasov.com/>

5th International Congress on Nematology. Brisbane, Australia. 13-18 Julio 2008.

<http://www.5icn.org/>

X Congreso Internacional / XXXV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Monterrey, México. 20-24 Julio 2008.

<http://www.sociedad.cjb.net/>

American Phytopathological Society Centennial Meeting. Minneapolis, EE.UU. 26-30 Julio 2008.

<http://meeting.apsnet.org/centennial/default.cfm>

XII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, XII International Congress of Mycology and XIV Congress of Virology. Estambul, Turquía. 5-15 Agosto 2008.

<http://www.iums2008.org/>

International Symposium on Induced Mutations in Plants. Viena, Austria. 12-15 Agosto 2008.

<http://www.pub.iaea.org/MTCD/Meetings/Announcements.asp?ConfID=167> .

3rd International *Phytophthora* and *Pythium* workshop. Turín, Italia, 23-24 Agosto 2008.

http://www.aphis.usda.gov/plant_health/identification/phytophthora/

9th International Congress of Plant Pathology. Turín, Italia., 24-29 Agosto 2008.

<http://www.icpp2008.org>

Fourth International Symposium on *Rhizoctonia*. Berlin, Alemania. 20-22 Agosto 2008. <http://www.rhizoctonia.org/>

The Agricultural Biotechnology International Conference. Cork, Irlanda. 24-27 Agosto 2008.

<http://www.abic.ca/abic2008/index.html> .

Conference on Adaptation of Forests and Forest Management to Changing Climate with Emphasis on Forest Health: A Review of Science, Policies, and Practices. Umea, Suecia 25-28 Agosto 2008.

<http://www.forestadaptation2008.net>

X International Fusarium Workshop and Fusarium Genomics Workshop. Cerdeña, Italia. 30 Agosto-2 Septiembre 2008.

<http://www.ars.usda.gov/Main/docs.htm?docid=9850> .

6th International workshop on grapevine trunk diseases. Florencia, Italia. 1-3 Septiembre 2008.

http://www.isppweb.org/nl_attachments/1st%20circular%206th%20IWGTD-%20update.doc

First International Symposium on Biotechnology of Fruit Species. Dresden, Alemania. 1-5 Septiembre 2008.

<http://www.biotechfruit2008.bafz.de>

IOBC/WPRS Working Group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens". Wädenswil, Suiza. 9-12 Septiembre 2008.

<http://www.iobc-wprs.org/events/>

IX Congreso Nacional de Micología. Córdoba, España. 17 - 19 Septiembre 2008.

<http://www.proyectosycongresos.net/Micologia2008/>

VI International Scientific Seminar on Plant Health. La Habana, Cuba. 22-26 Septiembre 2008.

<http://www.censa.edu.cu/Default.aspx?tabid=57>

16th Ornamental Workshop on Diseases and Pests. North Carolina, EE.UU. 22-26 Septiembre 2008.

<http://www.cals.ncsu.edu/plantpath/activities/societies/ornamental>

3rd Botrytis Genome Workshop Puerto de la Cruz, España. 25-27 Septiembre 2008

<http://webpages.ull.es/users/botrytis/>

AgriGenomics World Congress. Amsterdam, Holanda. 29-30 Septiembre 2008.
<http://www.selectbiosciences.com/conferences/AGWC2008/>

Patata 2008 - III Congreso Iberoamericano sobre Investigación y Desarrollo en Patata. Vitoria-Gasteiz. 5-9 Octubre 2008.
<http://www.patata2008.com>

Diversifying crop protection. Montpellier, Francia. 13-15 Octubre 2008.
http://www.endure-network.eu/international_conference_2008

30^{as} Jornadas de Productos Fitosanitarios. Barcelona. 20-21 Octubre 2008.
<http://fitos.iqs.edu/>

3rd European Whitefly Symposium. Aguadulce, Almería. 20-24 Octubre 2008.
<http://www.ews3.org/>

Euroblight workshop. Hamar, Noruega. 28-31 Octubre 2008.
<http://www.euroblight.net/EuroBlight.asp>

2nd International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases. Orlando, EE.UU. 4-7 Noviembre 2008.
JBJones@ufl.edu

VI Congreso Latinoamericano de Micología. Mar del Plata, Argentina. 10 - 13 Noviembre 2008.
<http://www.almic.org/congreso/principal.php>

10th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms. Wellington, Nueva Zelanda. 16-21 Noviembre 2008. <http://www.isbgmo.info>

Applied Aspects of Aerobiology. Rothamsted, UK. 19 Noviembre 2008.
<http://www.aab.org.uk>

International conference on genetic control of plant pathogenic viruses and their vectors: towards new resistance strategies. Puerto de Santa María, Cádiz. 23-27, Noviembre 2008.
<http://www.richalia.es/congreso/index.html>

XV Congreso Latinoamericano y XVIII Congreso Chileno de Fitopatología. Santiago, Chile. 12-16 Enero 2009.
<http://www.puc.cl/agronomia/congresoalf>

International Forest Biosecurity Conference, 6th International Forest Vegetation Management Conference. Rotorua, Nueva Zelanda. 16-20 Marzo 2009.
www.ensisjv.com/forestbiosecurity

Nigerian Phytopathological Society Inaugural Meeting. Ibadan, Nigeria. 11 -14 Mayo 2009. s.aigbe@cgiar.org

4th European Meeting of the IOBC/WPRS Group "Integrated Protection of Olive Crops". Córdoba. 1-4 Junio 2009.
<http://www.proyectosycongresos.com/>

3rd Congress of European Microbiologists - FEMS 2009. Göteborg, Suecia. 28 Junio-2 Julio 2009.
<http://www2.kenes.com/fems-microbiology/Pages/home.aspx>

Asociación Latinoamericana de Fitopatología, ALF
y Sociedad Chilena de Fitopatología

Invitan a usted al

XV CONGRESO LATINOAMERICANO DE
y XVIII CONGRESO CHILENO DE

FITOPATOLOGIA

FITOPATOLOGIA

12-16 de Enero de 2009
www.congresoalf.puc.cl

Campus San Joaquín
Pontificia Universidad Católica de Chile
Santiago, Chile
Consultas e inscripciones: fitopatologia@uc.cl

Un reto para la Fitopatología: Cómo evaluar el estado sanitario de las praderas de *Posidonia oceanica* en el Mediterráneo

Ester Marco-Noales, Begoña Águila-Clares, Mónica Ordax, Neus Garcias-Bonet, Núria Marbà, Carlos M. Duarte, María Milagros López

*Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada-Náquera, Km 4,5
46113 Moncada (Valencia)*

Posidonia oceanica (L.) Delile es una angiosperma marina clonal, de crecimiento muy lento (1-6 cm por año y ápice), que forma extensas y milenarias praderas altamente productivas a lo largo de toda la zona arenosa de la costa del Mediterráneo (Canals y Ballesteros, 1997; Duarte y Chiscano, 1999; Marbà y cols., 1996) (Fig. 1). Además de constituir una barrera para prevenir la erosión costera, las praderas de esta fanerógama desempeñan un importante papel ecológico en el ambiente marino, debido a la alta producción primaria del ecosistema que forman y a que en ellas tiene su hábitat una gran variedad de fauna y microbiota.



Figura 1. Pradera de *Posidonia oceanica* en una playa de Formentera (Islas Baleares).

Hay evidencias de que estas praderas marinas están experimentando un declive general en el Mediterráneo (Marbà y cols., 1996; Marbà y cols., 2005). Esta regresión se ha asociado a una combinación, todavía no bien esclarecida, de factores físicos y químicos,

consecuencia de la actividad humana y de eventos naturales (Duarte y cols., 2004). Sin embargo, los factores de estrés abiótico no parecen explicar completamente el declive observado en las praderas.

Aunque se sabe que en el océano hay aproximadamente 10^6 células bacterianas y 10^7 partículas víricas por ml, se dispone de escasa información acerca de su papel como potenciales patógenos de organismos marinos superiores, tanto de animales como de plantas, y ello a pesar de las evidencias de que el número de infecciones en animales marinos se ha incrementado en los últimos años (Harvell y cols., 1999). La actividad antropogénica (Ruiz y cols., 2000) y el cambio global (Harvell y cols., 1999, 2002) podrían estar en el origen de algunos de estos focos infecciosos, debido a que pueden facilitar el encuentro entre determinados microorganismos y poblaciones de hospedadores no expuestas previamente a aquellos. En el caso de las plantas acuáticas, se ha descrito la asociación entre diversos microorganismos y los tejidos vegetales, aislándose bacterias endófitas del rizoplaneo y las células del córtex profundo de *Halodule wrightii* (Küsel y cols., 1999), y de la superficie de raíces de *Z. marina* (Nielsen y cols., 1999). En cuanto a *Posidonia* spp., se han identificado algunos grupos bacterianos que colonizan la superficie de raíces y rizomas en *P. oceanica*, *P. australis* y *P. sinuosa* (García-Martínez y cols., 2005; Marco-Noales y cols., 2006). La mortalidad de los brotes de *P. oceanica* y la subsiguiente pérdida de praderas podrían estar favorecidas por microorganismos patógenos, pero esta posibilidad apenas ha sido explorada.

Nuestro objetivo, una vez identificadas algunas de las especies bacterianas asociadas con *P. oceanica*, es investigar la posible relación entre aquéllas y el estado sanitario de las praderas.

¿Podemos aplicar las mismas técnicas de muestreo y análisis a las plantas marinas y a las plantas terrestres?

Las estimaciones demográficas de los brotes de *P. oceanica* (tasa de mortalidad, tasa de reclutamiento, tasa de crecimiento neto de la población) de varias praderas de las Islas Baleares se valoraron anualmente mediante censos directos, en áreas de entre 0.12 y 0.25 m², muestreando al menos 100 brotes por pradera. Las praderas seleccionadas fueron: Illetes, Porto Colom, Magalluf, Pollença y Cala d'Or, todas ellas en Mallorca (Fig. 2) y cada una con un índice de mortalidad diferente.

Aunque las plantas no presentaban una sintomatología clara, se muestrearon varios ejemplares de cada una de las praderas, en dos épocas, marzo y octubre de 2004, a profundidades de entre 4 y 9 m: la única diferencia con un muestreo de plantas terrestres radicaba en el medio en el que se encuentran las plantas, que en este caso hace necesario el uso de un equipo de buceo para acceder a ellas (Fig. 3).

Basándonos en nuestros conocimientos de Fitopatología, se dilaceraron hojas, raíces y parte interna de los rizomas, utilizando Agua de Mar Artificial (Wolf y Oliver, 1992), puesto que las bacterias con las que nos podemos encontrar están adaptadas a la composición y la concentración salina del mar. Los extractos se incubaron durante aproximadamente 2 h con agitación a 25°C. Tras la incubación, se hizo una siembra en Agar Marino, y se generó una colección de más de 300 aislados bacterianos, que se identificaron mediante secuenciación parcial del rDNA 16S. Hasta aquí, el procedimiento de análisis es convencional, con la precaución de emplear medios específicos para bacterias marinas.

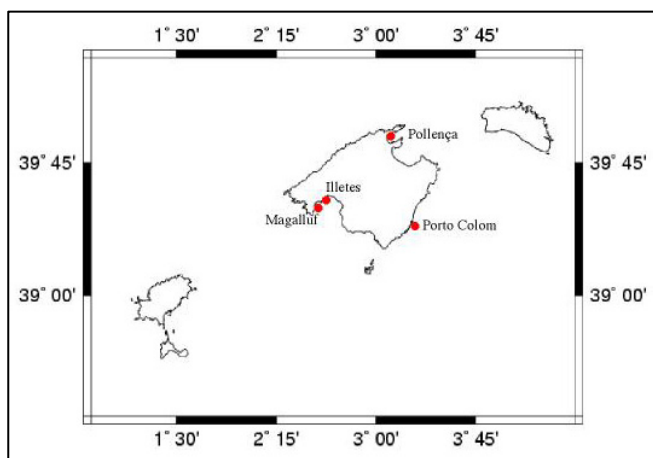


Figura 2. Situación de las praderas de *Posidonia oceanica* muestreadas a lo largo de 2004 en Mallorca.



Figura 3. Pradera de *Posidonia oceanica* en la playa de Porto Colom, Mallorca.

¿Hay bacterias implicadas en la regresión de las praderas de *P. oceanica*? Importancia de los compuestos extracelulares

Principales géneros y especies identificados. El número de bacterias cultivables aisladas de las plantas de *P. oceanica* osciló entre 10³ y 10⁴ ufc por gramo de hoja o raíz, y entre 10² y 3x10⁴ ufc por gramo de rizoma. Los géneros más abundantes encontrados fueron *Vibrio*, *Pseudoalteromonas*, *Alteromonas* y *Marinomonas*, y también fueron abundantes las llamadas “Bacterias Marinas”, un grupo sin validez taxonómica que engloba un conjunto de bacterias sin identificar pero con un alto grado de homología entre sí. La abundancia de los diferentes grupos bacterianos hallados varió en función de la pradera muestreada y la época del año. Sólo *Vibrio* spp. ha sido previamente asociado con plantas acuáticas, como *Vallisneria americana* (Kurtz y cols., 2003) y *Zostera* sp. (Cifuentes y cols., 2000). Hay que señalar que la información de la composición taxonómica de las comunidades microbianas asociadas con este tipo de praderas es escasa, y sólo se ha examinado en determinadas especies de plantas acuáticas como *Zostera marina*, *Z. noltii*, *Halodule wrightii*, *H. uninervis* y *Thalassia empirichii*.

Muchas de las especies bacterianas que hemos encontrado no habían sido descritas previamente en estudios de praderas formadas por otras plantas acuáticas. Tampoco nosotros hemos aislado en las praderas de *P. oceanica* todas las especies bacterianas halladas en esos estudios. Respecto a la presencia de aislados del género *Marinomonas*, varios parecen representar nuevas especies de este género (Espinosa y cols., 2007). Además, hemos hallado, por primera vez en el Mediterráneo, dos interesantes especies bacterianas, *Neptunomonas naphthovorans* y *Vibrio cyclitrophicus*,

ambas descritas como degradadoras de hidrocarburos aromáticos policíclicos (compuestos del petróleo).

El caso de *Pseudoalteromonas*. Hasta el momento no se ha encontrado una correlación clara entre la presencia de determinados géneros bacterianos y el índice de mortalidad de las praderas. Sin embargo, algunos de los géneros que se han encontrado con más abundancia contienen especies patógenas para peces y algas, otras menos virulentas e incluso algunas beneficiosas para sus hospedadores naturales (Hölstrom y Kjelleberg, 1999; Sawabe y cols., 1998). Uno de estos casos es el del género *Pseudoalteromonas*, ampliamente distribuido por diversos hábitats marinos (Skovhus y cols., 2004), cuyos aislados producen una gran variedad de compuestos extracelulares con actividad biológica (Hölstrom y Kjelleberg, 1999; Lee y cols., 2000). Estos compuestos podrían tener algún papel en la interacción de la bacteria con el organismo al que se asocia, como

podría ser la erosión de los tejidos. Algunas de las hojas de las muestras recogidas de *P. oceanica* presentaban lesiones de causa desconocida, en forma de áreas cloróticas o pequeñas manchas (Fig. 4). La observación de las hojas mediante microscopía electrónica de barrido reveló que la parte no lesionada aparecía con la cutícula intacta y sin bacterias adheridas, mientras que las zonas erosionadas mostraban grupos de bacterias más o menos establecidos dentro de las lesiones y en números de aproximadamente $2.5-3.3 \times 10^7$ bacterias cm^{-2} (Fig. 4). La diversidad de microorganismos presentes en las lesiones recuerda a las comunidades “biofouling” comunes en la superficie de muchos ambientes marinos (Henschel y Cook, 1990; Wahl, 1989), formadas por microorganismos, plantas, algas y animales, que producen efectos indeseados sobre las superficies en que se encuentran.

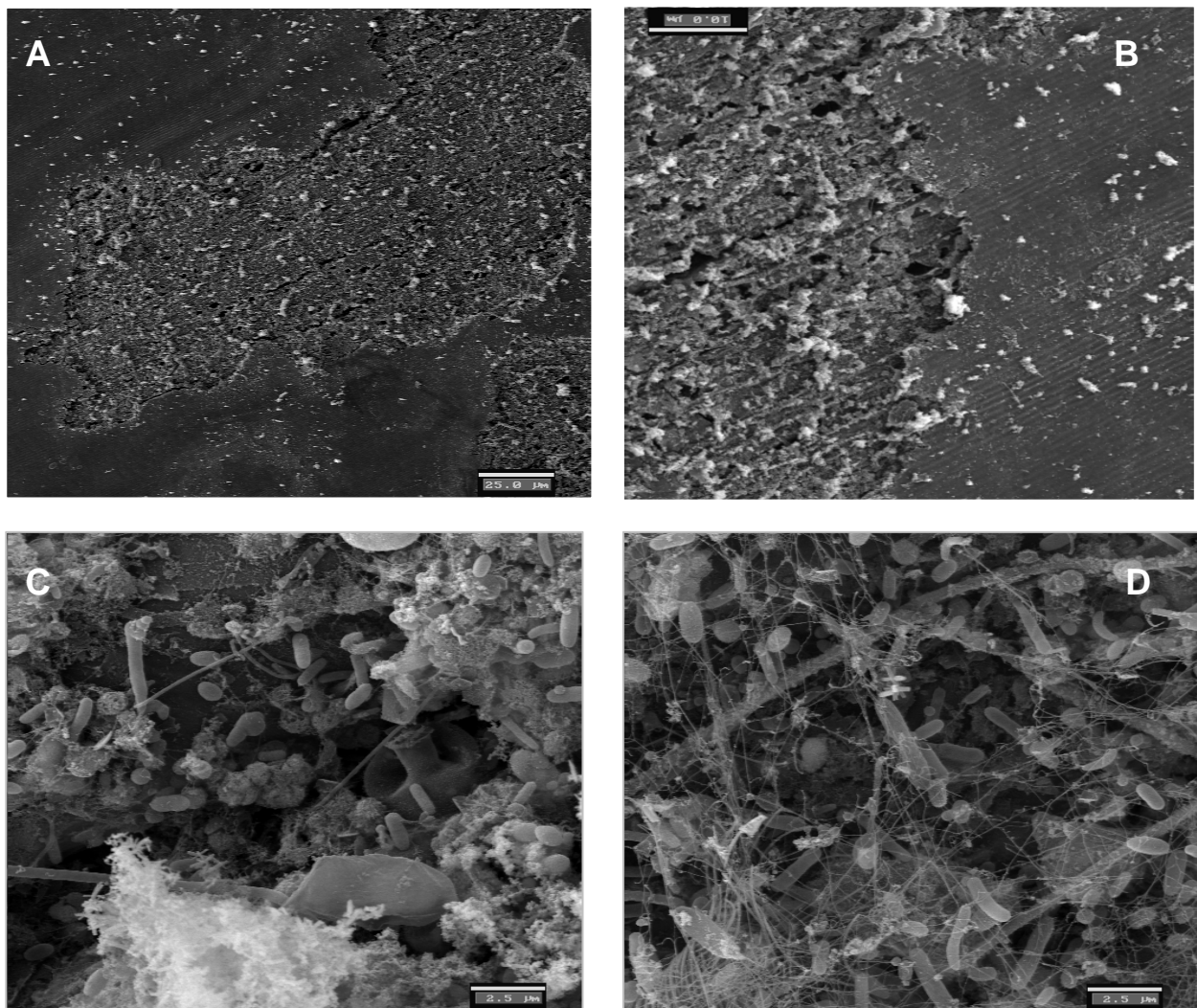


Figura 4. Hoja de *Posidonia oceanica* con un área erosionada. A y B, visión general de la zona afectada; C y D, visión de la parte interna de la lesión. La escala representa 25 μm en A, 10 μm en B y 2.5 μm en C y D.

Evaluando el potencial enzimático de los aislados. Nuestra hipótesis de partida es que algunos enzimas, excretados por los aislados más activos enzimáticamente, pueden dañar las hojas de *P. oceanica*, produciéndose a continuación la colonización por diferentes bacterias, diatomeas y otros invertebrados. Sabiendo que algunos de los aislados que habíamos encontrado pertenecían a géneros que están descritos como productores de enzimas degradadores, y que incluso en algunas ocasiones se han documentado casos de patogenicidad en algas (aunque *P. oceanica* no es una alga sino una planta superior), quisimos estudiar la actividad enzimática de una selección de unos 200 aislados. Este estudio se ha llevado a cabo mediante dos aproximaciones: i) el sistema comercial miniaturizado APIZYM, un método semicuantitativo que permite estudiar 19 actividades enzimáticas; y ii) la hidrólisis en medio sólido de un sustrato de origen vegetal, como almidón, celulosa o pectina. Ambas técnicas son de uso habitual en el estudio de la actividad enzimática de bacterias fitopatógenas. El almidón es uno de los componentes del rizoma de *P. oceanica*, mientras que la pectina y la celulosa son componentes de su pared celular, siendo las hojas de

esta planta especialmente ricas en celulosa. Los aislados que dieron mayor número de pruebas positivas (36,3%) en APIZYM correspondían al género *Pseudoalteromonas*, mientras que los que presentaron menor número de positivos (18,4%) pertenecían al grupo de “Bacterias Marinas” (Fig. 5). La hidrólisis en placa de sustratos de origen vegetal reveló que los aislados de *Pseudoalteromonas* spp. fueron los que degradaron el almidón (el sustrato más utilizado por todas las bacterias) en mayor proporción (93,3%), seguidos de los pertenecientes a *Vibrio* spp. (66,7%) y *Alteromonas* spp. (56,1%) (Fig. 6). Los aislados de menor actividad fueron los de *Marinomonas* spp. y, de nuevo, los del grupo de “Bacterias Marinas”. Algunos aislados presentaron más de una de las tres actividades ensayadas. Un elevado porcentaje de aislados de *Alteromonas* spp. (75%) y un porcentaje importante de aislados de *Pseudoalteromonas* spp. (20%) fueron capaces de degradar también agar, polisacárido producido por algas. El efecto de las bacterias degradadoras podría estar intensificado en las praderas de *P. oceanica*, debido a los diferentes tipos de estrés físico y químico a los que están sometidas (Homer y cols., 2003).

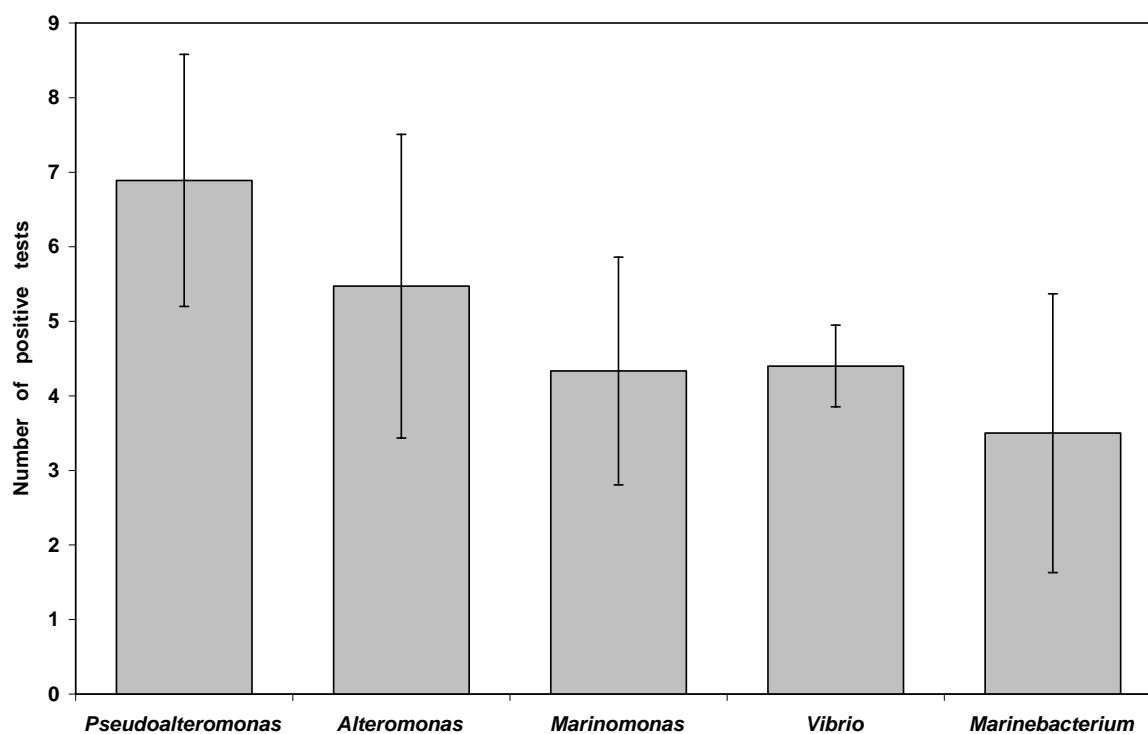


Figura 5. Número medio de pruebas positivas en el sistema miniaturizado APIZYM en cada uno de los grupos de cepas pertenecientes a diferentes géneros bacterianos asociados con plantas de *Posidonia oceanica*. Las barras representan la desviación estándar de cada medida.

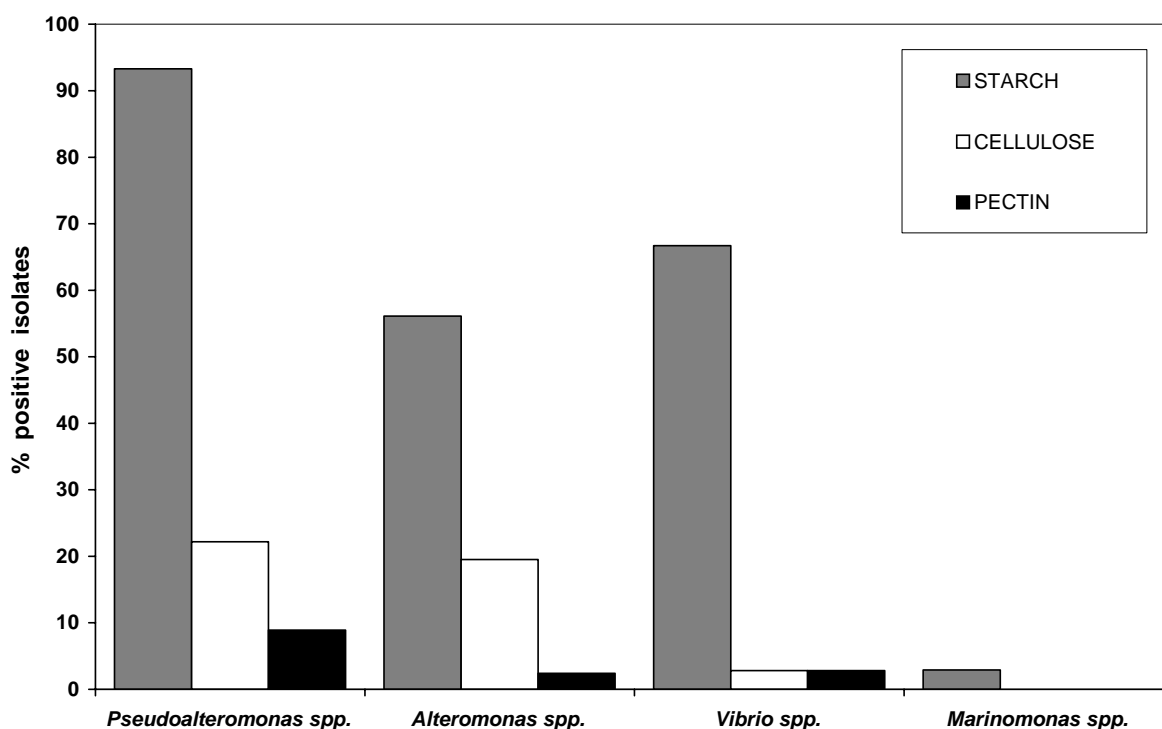


Figura 6. Porcentaje medio de los aislados degradadores de tres sustratos de origen vegetal: almidón, celulosa o pectina, pertenecientes a diferentes géneros bacterianos asociados con plantas de *Posidonia oceanica*.

Los problemas de la verificación del poder patógeno. Siguiendo los postulados de Koch, el ensayo decisivo para determinar el poder patógeno de una bacteria es la inoculación de la misma en el hospedador susceptible. En nuestro caso, para llevar a cabo estos ensayos en *P. oceanica*, nos encontramos con dos importantes problemas. Por un lado, ¿qué sistema experimental podemos diseñar para inocular la bacteria en una planta que sólo puede sobrevivir sumergida bajo el agua del Mediterráneo? Y por otro, teniendo en cuenta que *P. oceanica* es una planta en regresión, ¿cómo obtener plantas sanas o utilizar las réplicas necesarias sin perturbar las praderas, ya de por sí tan amenazadas? La primera pregunta hace referencia a un problema específico de las plantas acuáticas. La segunda apunta a un problema común a plantas terrestres y acuáticas, con el inconveniente añadido en el caso de las acuáticas de la dificultad de encontrar una planta modelo adecuada. Una de las soluciones, el cultivo de plántulas *in vitro* de *P. oceanica* a partir de meristemos, se está desarrollando para especies forestales amenazadas, pero su aplicación a *P. oceanica* plantea *a priori* muchos problemas por el gran desconocimiento que se tiene de la mayoría de los aspectos de la fisiología de esta planta. La germinación de semillas *in vitro* es otra de las vías de obtención de plántulas en gran cantidad, pero *P. oceanica* tiene una floración errática, muy dependiente de las condiciones climáticas, que es difícil de prever y que puede producirse tras largos lapsos de tiempo. Así que no se puede disponer de semillas de forma regular para poner

a punto el sistema. De hecho, la última floración tuvo lugar hace cuatro años y no se ha repetido desde entonces. Por ello, la demostración directa de la implicación de especies bacterianas en la regresión observada necesita de la colaboración de expertos en Biotecnología, Cultivo *in vitro*, Fisiología vegetal y Fitopatología.

Valoración de los resultados obtenidos: perspectivas de la investigación fitopatológica en uno de los principales ecosistemas mediterráneos

Nuestros resultados han demostrado la presencia de microbiota bacteriana en los tejidos de *P. oceanica*, principalmente perteneciente a los géneros *Pseudoalteromonas*, *Alteromonas*, *Vibrio* y *Marinomonas*, y que las bacterias identificadas podrían desempeñar diversas funciones en el ecosistema de las praderas. La detección de *Pseudoalteromonas spp.* y *Vibrio spp.* en los tejidos de *P. oceanica* es particularmente interesante, ya que, como se ha comentado anteriormente, estos géneros incluyen especies patógenas para vertebrados e invertebrados marinos y para algas. El siguiente paso es evaluar, en material vegetal, la patogenicidad de los aislados más activos enzimáticamente, pues debido a su potencial degradador podrían influir en el estado sanitario de *P. oceanica*, causando erosiones o pequeñas lesiones que pueden hacer la planta más susceptible a determinados tipos de estrés ambiental, contribuyendo probablemente a su regresión. Hemos

seleccionado 25 cepas bacterianas para ensayar su potencial patógeno. Éste es nuestro gran reto y, en cierto modo, un reto para la Fitopatología, ya que es necesario encontrar un material vegetal adecuado, no lejano filogenética ni ecológicamente a *P. oceanica*, que pueda mantenerse en buen estado durante todo el período de ensayo. Y, además, hay que diseñar un sistema experimental que nos permita reproducir las condiciones en las que se encuentran estas plantas en el ambiente marino.

Aunque aún no se ha podido demostrar la implicación real de las bacterias, nuestros resultados

sugieren que no se puede descartar su contribución a la mortalidad observada en ese importante ecosistema mediterráneo que constituyen las praderas de *P. oceanica*. Nuestra aportación para frenar la regresión de este ecosistema dependerá de nuestra capacidad para establecer un sistema experimental adecuado que permita determinar con precisión la naturaleza de la relación entre las bacterias y el estado sanitario de las praderas.

Bibliografía

- Canals, M., Ballesteros, E. (1997). Production of carbonate particles by phytobenthic communities on the Mallorca-Menorca shelf, northwestern Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res. Part II-Top. Stud. Oceanogr.* 44: 611-629.
- Cifuentes, A., Antón, J., Benloch, S., Donnelly, A., Herbert, R.A., Rodríguez-Valera, F., 2000. Prokaryotic diversity in *Zostera noltii*-colonized marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1715-1719.
- Duarte, C.M., Chiscano, C.L. (1999). Seagrass biomass and production: a reassessment. *Aquat. Bot.* 65: 159-174.
- Duarte C.M., Borum J., Short F.T., Walker D.I. (2004) Seagrass ecosystems: their global status and prospects. In: Polunin NVC editor. *Aquatic Ecosystems: Trends and Global Prospects*. Cambridge University Press.
- Espinosa, E., Gómez, D., Lucas-Elío, P., Bertazzo, M., Marco-Noales, E., M. Ordax, M., Garcías-Bonet, N., Marba, N., López, M.M., Duarte, C.M., Sanchez-Amat, A. 2007. Caracterización de cepas de *Marinomonas* asociadas a la microbiota de *Posidonia oceanica*. XXI Congreso SEM, Sevilla.
- García-Martínez M., Kuo J., Kilminster K., Walker D., Rossello-Mora R., Duarte C.M. (2005). Microbial colonization in the seagrass *Posidonia* spp. roots. *Marine Biology Research*, 1, 388-395.
- Harvell C.D., Kim K., Burkholder J.M., Colwell R.R., Epstein P.R., Grimes D.J., Hofmann E.E., Lipp E.K., Osterhaus A.D.M.E., Overstreet R.M., Porter J.W., Smith G.W., Vasta G.R. (1999). Emerging Marine Diseases-Climate Links and Anthropogenic Factors. *Science*, 285, 1505-1510.
- Harvell C.D., Mitchel C.E., Ward J.R., Altizer S., Dobson A.P., Ostfeld R.S., Samuel M.D. (2002). Ecology - Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science*, 296, 2158-2162.
- Henschel, J.R., Cook, P.A. (1990). The development of a marine fouling community in relation to the primary film of microorganisms. *Biofouling* 2, 1-11.
- Holmer, M., Duarte, C M., Marbà, N. (2003). Sulfur cycling and seagrass (*Posidonia oceanica*) status in carbonate sediments. *Mar. Biogeochemistry* 66: 223-239.
- Hölstrom, C., Kjelleberg, S. (1999). Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce active extracellular agents. *FEMS Microbiol. Ecol.* 30, 285-293.
- Kurtz, J.C., Yates, D.F., Macauley, J.M., Quarles, R.L., Genthner, F.J., Chancy, C.A., Deveraux, R. (2003). Effects of light reduction on growth of the submerged macrophyte *Vallisneria americana* and the community of root associated heterotrophic bacteria. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 291: 199-218.

- Küsel K., Pinkart H.C., Drake H.L., Devereux R. (1999) Acetogenic and sulfate-reducing bacteria inhabiting the rhizoplane and deep cortex cells of the sea grass *Halodule wrightii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 5117-5123.
- Lee, S.O., Kato, J., Takiguchi, N., Kuroda, A., Ikeda, T., Mitsutani, A., Ohtake, H. (2000). Involvement of an extracellular protease in the algicidal activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain A28. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 4334-4339.
- Marbà, N., Duarte, C.M., Cebrián, J., Gallegos, M.E., Olsen, B. y Sand-Jensen, K. (1996). Growth and population dynamics of *Posidonia oceanica* on the Spanish Mediterranean coast: elucidating seagrass decline. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 137, 203-210.
- Marbà, N., Duarte, C.M., Díaz-Almela, E., Terrados, J., Álvarez, E., Martínez, R., Santiago, R., Gacia, E., Grau, A.M. 2005. Direct evidence of imbalanced seagrass (*Posidonia oceanica*) shoot population dynamics along the Spanish Mediterranean. *Estuaries* 28: 53-62.
- Marco-Noales E., Ordax M., Delgado A., López M.M., Saavedra M.J., Martínez-Murcia A., Garcias N., Marbà N., Duarte C.M. (2006) Microbiota associated with *Posidonia oceanica* in Western Mediterranean sea. In: A. Mendez-Vilas (Ed). *Modern multidisciplinary applied microbiology*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- Muehlstein L.K., Porter D., Short F.T. (1991) *Labyrinthula zosterae* sp. nov., the causative agent of wasting disease of eelgrass, *Zostera marina*. *Mycologia*, 83, 180-191.
- Nielsen J.T., Liesack W., Finster K. (1999) *Desulfovibrio zosterae* sp. nov., a new sulfate reducer isolated from surface-sterilized roots of the seagrass *Zostera marina*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49, 859-865.
- Robblee M.B., Barber T.R., Carlson P.R., Durako M.J., Fourqurean J.W., Muehlstein L.K., Porter D., Yarbrow L.A., Zieman R.T., Zieman J.C. (1991) Mass mortality of the tropical seagrass *Thalassia testudinum* in Florida Bay (USA). *Marine Ecology Progress Series* 71, 297-299.
- Ruiz G.M., Rawlings T.K., Dobbs F.C., Drake L.A., Mullady T., Huq A., Colwell R.R. (2000). Global spread of microorganisms by ships - Ballast water discharged from vessels harbours a cocktail of potential pathogens. *Nature*, 408, 49-50.
- Sawabe, T., Makino, H., Tatsumi, M., Nakano, K., Tajima, K., Iqba, M.M., Yumoto, I., Ezura, Y., Christen, R. (1998). *Pseudoalteromonas bacteriolytica* sp. nov., a marine bacterium that is the causative agent of red spot disease of *Laminaria japonica*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48, 769-774.
- Skovhus, T.L., Ramsing, N.B., Hølstrom, C., Kjelleberg, S., Dahllöf, I. (2004). Real-Time Quantitative PCR for Assessment of Abundance of *Pseudoalteromonas* Species in Marine Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2373-2382.
- Wahl, M. (1989). Marine epibiosis I. Fouling and antifouling, some basic aspects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 58, 175-189.
- Wolf, P.W., Oliver, J.D. (1992). Temperature effects on the viable but non-culturable state of *Vibrio vulnificus*. *FEMS Microb. Ecol.* 101, 33-39.

BOLETÍN DE LA SEF
Publicación trimestral ISSN: 1998-513X
 Iñigo Zabalgoitia, IRNA-CSIC (Salamanca), izabalgo@usal.es
 Jose Luis Palomo, C.R. Diagnóstico (Salamanca), jlp@usal.es