

# V REUNIÓN DEL GRUPO ESPECIALIZADO EN DETECCIÓN, DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN



HUELVA

17 a 19 octubre 2023

Centro Cultural JOSÉ LUIS GARCÍA PALACIOS  
Salón de Actos de Fundación Caja Rural del Sur.  
C\ Alcalde de Mora Claros, 6-8.

## PROTOCOLO DE DETECCIÓN DE BACTERIAS VIABLES POR QPCR

Sabuquillo, P.<sup>1</sup>; Palacio-Bielsa, A.<sup>2</sup>; Berruete, I.M.<sup>2</sup>; Cubero, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria/Consejo Superior de Investigaciones Científicas (INIA/CSIC) ([mpsc@inia.csic.es](mailto:mpsc@inia.csic.es));

<sup>2</sup> Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón-Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza)

*Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (Xap), agente causal de la mancha bacteriana en *Prunus* spp, es un patógeno importante en melocotonero, nectarino, ciruelo y almendro. Xap provoca síntomas en hojas, frutos, ramas y troncos de los árboles y, en infecciones severas, puede afectar a la producción. Esta bacteria distribuida mundialmente está clasificada por la Unión Europea como organismo regulado no cuarentenario.

Las organizaciones nacionales e internacionales de protección fitosanitaria recomiendan protocolos de diagnóstico de enfermedades que permitan una mejor gestión del riesgo y establecen recomendaciones para el control sanitario de las especies de importancia económica para la agricultura. Muchas técnicas de detección y diagnóstico, y especialmente aquellas basadas en técnicas de biología molecular, no atienden a la viabilidad de los microorganismos, lo que suscita en ocasiones dudas sobre el peligro epidemiológico que suponen las muestras positivas. En este contexto, se ha estudiado el desarrollo de un protocolo de detección de bacterias viables mediante qPCR combinada con el uso de agentes intercalantes de ADN. Estos agentes penetran en células muertas que tienen la membrana comprometida, intercalándose covalentemente al ADN, e impidiendo su posterior amplificación por PCR.

En este trabajo se ha estudiado la utilización de distintos agentes intercalantes antes de la amplificación por qPCR. Los ensayos se realizaron tanto a partir de cultivos puros de Xap como de material vegetal inoculado con esta bacteria, determinándose la capacidad de la técnica para la detección exclusiva de bacterias viables y estimándose parámetros como la posible interferencia de los agentes intercalantes en el protocolo de qPCR o en la viabilidad de Xap.

Concluimos que el método de diagnóstico propuesto ofrece resultados prometedores para laboratorios de diagnóstico y en estudios de investigación, ya que la adición de agentes intercalantes permite determinar la presencia de bacterias con verdadera capacidad infectiva. Este protocolo pretende contribuir a la mejora de la sostenibilidad medioambiental al proporcionar una metodología que permitirá ajustar las medidas de control a las necesidades reales.

Este trabajo forma parte de los proyectos RTI2018-96018-R-C31 y PID2021-123600OR, financiados por MCIN/ AEI /10.13039/501100011033/ y por “FEDER Una manera de hacer Europa”.