

La Patología Vegetal en los últimos 25 años

Jesús Murillo¹, Amaya Ortiz-Barredo², M^a Ángeles Ayllón³ y María Milagros López⁴

¹ETS Ingenieros Agrónomos, Universidad Pública de Navarra, Pamplona; ²Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, Neiker-Tecnalia, Vitoria; ³Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid; ⁴Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Moncada, Valencia

En los últimos 25 años hemos asistido a una verdadera revolución de la Ciencia y la Tecnología que, por supuesto, también ha influido de manera importante sobre el desarrollo de la Patología Vegetal. A petición de la editorial Phytoma, en este artículo hemos recogido 25 acontecimientos (avances, logros, riesgos y amenazas) de especial importancia. Indudablemente, la revolución electrónica ha facilitado la comunicación entre investigadores, la diseminación del conocimiento científico y el desarrollo de nuevas técnicas de análisis, entre otras, que han facilitado la generación y análisis de datos. Además, en estos 25 años se han producido diversos avances y acontecimientos que han impactado de forma particular sobre el desarrollo de la Patología Vegetal en España y en el mundo.

La tarea de recoger sólo 25 acontecimientos es francamente difícil, porque los conocimientos sobre virus, viroides, procariotas, hongos, oomicetos y nematodos fitopatógenos han experimentado un avance sin precedentes en este periodo, beneficiándose de numerosas tecnologías de análisis masivo y realizando contribuciones fundamentales que trascienden el campo de la Fitopatología, como por ejemplo en la Genética Microbiana y en la Biología Vegetal. Obviamente, la relación que aquí se presenta está influida por la percepción de los

autores y no puede ser exhaustiva, por lo que es probable que no incluya acontecimientos que otros consideren de mayor relevancia que los aquí recogidos. No pretendemos, por tanto, que esta relación sea la referencia de lo más importante que ha sucedido en estos años, sino ilustrar al lector sobre 25 acontecimientos por su transcendencia para la Patología Vegetal y para la Sociedad Española de Fitopatología. El lector interesado podrá encontrar otros ejemplos en diversos artículos sobre el tema (Cook, 2000; Keen, 2000; Sequeira, 2000).

Patógenos

- 1. Tomemos la horizontal: sexo entre especies.** La secuenciación de miles de genomas de microorganismos ha demostrado que la transferencia horizontal de genes ocurre con alta frecuencia entre procariotas y eucariotas, y que es un mecanismo clave para la evolución de la patogenicidad y virulencia (Pallen y Wren, 2007; Haegeman *et al.*, 2011; Mehrabi *et al.*, 2011; Jiang y Tyler, 2012).
- 2. Oomicetos: armas de destrucción masiva.** La secuenciación y análisis de genomas de oomicetos ha probado la existencia de mecanismos comunes de virulencia, la

localización de los genes de virulencia en regiones genómicas altamente dinámicas, y la adquisición horizontal de estos genes desde diversas especies de eucariotas y procariotas (Jiang y Tyler, 2012).

- 3. La reinención de los nematodos.** La capacidad de los nematodos para parasitar plantas ha surgido de manera independiente al menos tres veces durante su evolución (Haegeman *et al.*, 2011). Más sorprendente es que esto ha sido posible gracias a la adquisición masiva de genes por transferencia horizontal desde hongos y bacterias.

4. **Los oídios: conociendo los gustos del enemigo.** El análisis del genoma de *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* y su comparación con los de otros dos oídios patógenos de dicotiledóneas, liderado por laboratorios europeos, supuso un punto de inflexión en el conocimiento de estos biotrofos obligados y su adaptación específica al huésped (Spanu *et al.*, 2010).
5. **Las bacterias, ¿vegetarianas?, ¿carnívoras?, ¿omnívoras?** Se ha demostrado la homología estructural y funcional de sistemas de patogenicidad en bacterias de plantas y animales, y la capacidad de algunas especies para infectar tanto a unos como a otros como parte integral de su ciclo de vida (Cao *et al.*, 2001; Nadarasah y Stavrinides, 2011; Brandl *et al.*, 2013).
6. **Los genes de avirulencia son en realidad efectores de patogenicidad y virulencia.** La demostración de que los productos de los genes de avirulencia (efectores) son esenciales para la patogenicidad o aumentan la virulencia (Kearney

y Staskawicz, 1990), ha permitido explicar la selección de sistemas de reconocimiento de efectores para disparar respuestas de defensa en

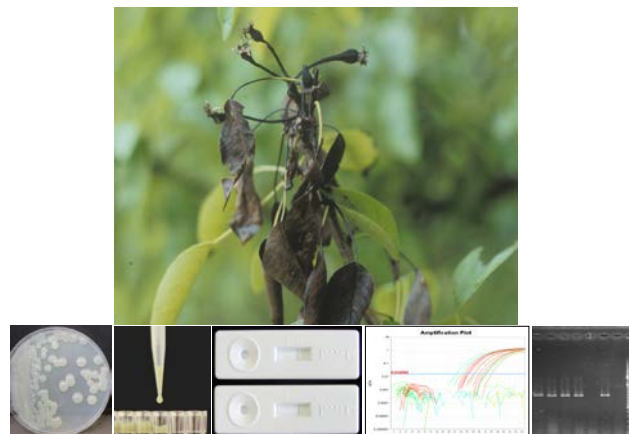


Figura 1. El fuego bacteriano de las rosáceas (foto superior) está causado por *Erwinia amylovora* que es una bacteria de cuarentena y emergente en España desde 1995. Su diagnóstico ha evolucionado desde el aislamiento (foto inferior izquierda), pasando por las técnicas serológicas como ELISA y las tiras de flujo lateral, hasta las técnicas moleculares PCR a tiempo real o convencional (fotos inferiores derecha).

las plantas.

Plantas

7. ***Arabidopsis thaliana*, planta modelo para los fitopatólogos.** Esta crucífera se ha utilizado en diversos patosistemas para diseccionar las respuestas de defensa vegetal y los mecanismos de la interacción planta-patógeno (Meyerowitz, 1989), permitiendo un avance sin precedentes en esta área.
8. **El oxígeno y la resistencia.** En estos años, se ha demostrado que las especies reactivas de oxígeno (ROS) juegan un papel fundamental en la respuesta de la planta a estreses bióticos y abióticos (Mittler, 2002).
9. **Clonación del primer gen de resistencia de plantas.** La utilización de resistencia vegetal es uno de los métodos más deseables para el control de las enfermedades de plantas, por lo que a finales del siglo XX diversos laboratorios se embarcaron en la clonación y caracterización de genes de resistencia. El primero identificado fue el gen N de tabaco, que confiere resistencia al

virus del mosaico del tabaco (Whitham *et al.*, 1994).

10. **Inmunidad innata en plantas.** La caracterización de las rutas de señalización para la inducción de resistencia vegetal ha mostrado similitudes relevantes entre la inmunidad innata de plantas y animales, sugiriendo un posible origen común (Jones y Dangl, 2006).
11. **La cabalgata de las hormonas.** En estos años se ha establecido el papel fundamental de las hormonas ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno en la regulación de las respuestas de defensa de la planta (Derksen *et al.*, 2013).
12. **Silenciamiento génico.** En este periodo se descubre que una de las funciones que tiene en plantas el silenciamiento por RNA es el control de las infecciones virales (Vance y Vaucheret, 2001). El mecanismo de defensa antiviral mediado por RNA en planta comienza a explotarse mediante el uso de vectores virales que inducen este silenciamiento génico (VIGS, virus-induced gene

silencing) (Lu *et al.*, 2003). En estos últimos años se ha demostrado que también funciona como un mecanismo de defensa antiviral en hongos a través de los estudios realizados con el hongo

Cryphonectria parasitica y el virus *Cryphonectria hypovirus 1* (Segers *et al.*, 2006; Segers *et al.*, 2007).

Avances en técnicas y conocimiento de mecanismos

13. La PCR. La reacción en cadena de la polimerasa es probablemente la técnica que mayor impacto ha tenido sobre el avance científico de los últimos años. Además de facilitar el análisis y manipulación genética de los diversos patógenos vegetales, la PCR ha revolucionado las técnicas de detección y diagnóstico, posibilitando la identificación rápida y precisa de los agentes patógenos (Henson y French, 1993). Actualmente existen diversas variantes de la PCR, que permiten aumentar la sensibilidad y especificidad, y un buen número de protocolos para la detección de diversos agentes patógenos (p. ej., López *et al.*, 2003; De Boer y López, 2012).

14. Secuenciación masiva. En los últimos años, las técnicas de secuenciación masiva han permitido la secuenciación de genomas simples y complejos, tanto de patógenos vegetales como de sus plantas huésped. Mientras que se dispone de la secuencia de genomas de virus desde hace tiempo, el primer patógeno bacteriano en ser secuenciado fue *Xylella fastidiosa* (Simpson *et al.*, 2000), causante de enfermedades de la vid, cítricos y otros cultivos. Desde entonces, el número de genomas de patógenos, tanto procariontas como eucariotas, ha aumentado vertiginosamente. Varios científicos españoles han participado en la secuenciación del genoma de diversos patógenos vegetales (p. ej., Cuomo *et*

al., 2007; Rodríguez-Palenzuela *et al.*, 2010; Spanu *et al.*, 2010; Glasner *et al.*, 2011).

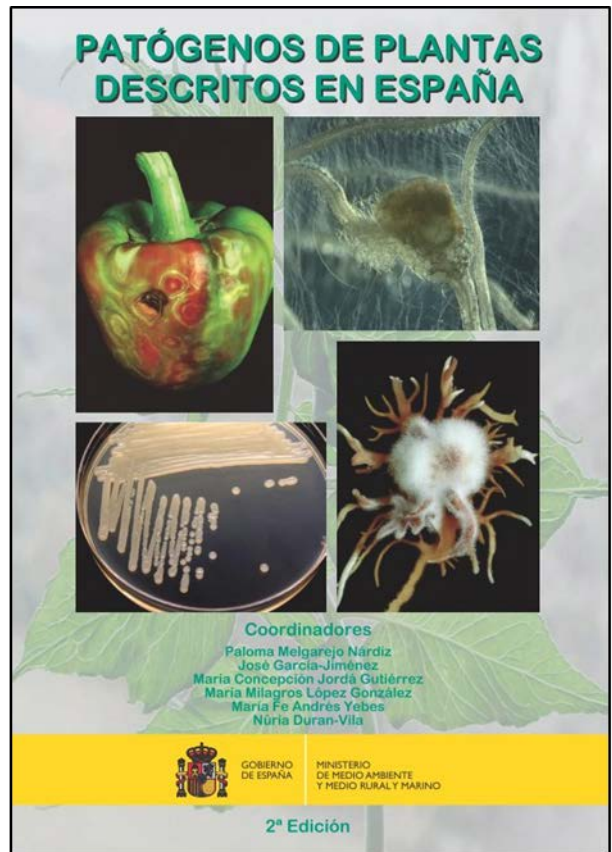


Figura 2. Portada de la segunda edición del Catálogo de patógenos de plantas descritos en España. El libro incluye la descripción de los patógenos, huéspedes afectados, enfermedades que causan y su distribución geográfica, sustentándose en referencias suficientemente acreditadas. El libro ha sido elaborado por especialistas de la Sociedad Española de Fitopatología y editado por esta Sociedad en colaboración con el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

La Sociedad Española de Fitopatología (SEF)

15. Catálogo de patógenos de plantas descritos en España. Elaborado por la SEF, y editado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, se publica en 1998 el primer catálogo de patógenos vegetales presentes en España

(Andrés *et al.*, 1998), que tuvo una segunda edición en 2010.

16. La SEF cumple 30 años. Fue creada en 1981 a partir de un Grupo Especializado de la Sociedad Española de Microbiología, y por ello ha cumplido

30 años en 2011 y se ha consolidado como una sociedad científica de relevancia en nuestro país, agrupando actualmente alrededor de 550 socios.

- 17. Creación de la Asociación Española de Sanidad Vegetal (AESaVe).** El declive en la formación especializada en Sanidad Vegetal, junto con las nuevas exigencias normativas de la Unión Europea para el control de fitófagos,

enfermedades y malas hierbas, impulsaron la coordinación de la Sociedad Española de Fitopatología, la Sociedad Española de Entomología Aplicada y la Sociedad Española de Malherbología que, junto con la Editorial Phytoma, han llevado a la creación de esta asociación científico-técnica-profesional (Recasens, 2012).

Riesgos y amenazas

- 18. La formación de patólogos vegetales en declive.**

Las sucesivas modificaciones de los planes de estudio y la implantación de los Grados han conducido a una drástica reducción de la enseñanza universitaria en Sanidad Vegetal (López y Murillo, 2012), lo que cuestiona la futura disponibilidad de profesionales competentes en Fitopatología y en las otras materias relacionadas.

- 19. Detección de nuevos virus y viroides de cuarentena en España.** Los mayores problemas de nuevos virus identificados en España han sido los causados por virus de hortícolas como el *Broad bean wilt virus1* (BBWV-1), *Cucumber vein yellowing virus* (CVYV), *Pepino mosaic virus* (PepMV), *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV), *Tomato torrado virus* (ToTV), *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV), y *Tomato Yellow Leaf Curl Sardinia* (TYLCSV). Uno de los virus de mayor importancia económica en el mundo, el virus del bronceado del tomate (TSWV), se detectó en España en 1991 en Almería y Valencia sobre tomate y pimiento (Jordá y Osca, 1989). El virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV) es un complejo de especies, transmitidas por mosca blanca, que causan las enfermedades víricas de mayor importancia en tomate. Descrito por primera vez en España en 1992 (Moriones *et al.*, 1993), se ha distribuido por todas las zonas hortícolas del sur y sudeste español. El virus del mosaico del pepino (PepMV) es considerado uno de los patógenos más importantes del tomate en el mundo, y se detectó en España en 2000 (Jordá *et al.*, 2001).

- 20. Detección de bacterias de cuarentena en España.**

Entre las detectadas en este período conviene señalar a *Erwinia amylovora*, causante el fuego bacteriano y que produce importantes pérdidas en peral, manzano y níspero. En España se detectó por primera vez en Guipúzcoa y, posteriormente, en diversas comunidades autónomas (Jock *et al.*, 2002). Las medidas de erradicación han limitado la dispersión del patógeno (Palacio-Bielsa *et al.*, 2012), pero la crisis económica ha llevado al abandono de esta estrategia de control en varias CCAA y siguen apareciendo focos en diversas localidades. También se han llevado a cabo medidas de erradicación en los focos de *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* y *Ralstonia solanacearum* en patata y de *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* en frutales de hueso.

- 21. Detección de hongos y oomicetos de cuarentena en España.**

El incremento en el movimiento de material vegetal entre países se ha correlacionado con un aumento en los hongos de cuarentena identificados en España, de entre los que destaca *Fusarium circinatum* (*Gibberella circinata*). Durante el invierno de 2003-2004, fueron observados síntomas de necrosis de acículas (Dieback) en *Pinus radiata* y *P. pinaster* en viveros de Asturias, y se confirmó por primera vez en España y Europa la presencia de este hongo (Landeras *et al.*, 2005), aunque había sospechas de su presencia desde 1998. Igualmente, se han detectado otras especies de cuarentena en España, como *Monilinia fructicola* y *Phytophthora ramorum* (Moralejo y Werres,

2002; De Cal *et al.*, 2009; Pérez-Sierra *et al.*, 2013).

22. Detección del nematodo del pino en España. *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nicle *et al.*, un nematodo de cuarentena, fue detectado en Europa por primera vez en Portugal, en 1999. En este país se inició un programa de erradicación pero, no obstante, en

2008 se detectó en España (Abelleira *et al.*, 2011). Como consecuencia, se estableció un Plan de Contingencia Nacional específico para esta enfermedad a instancia de la Decisión de la Comisión Europea de 2008/790/CE, que ha establecido procedimientos básicos que aseguren una respuesta armonizada, rápida y eficaz, para todo el Estado.

Normativa y legislación

23. Normas técnicas específicas para el control integrado. A partir de 1991 y en ausencia de normativa comunitaria sobre Producción Integrada, las CCAA españolas con las competencias otorgadas en materia de agricultura, establecieron las normas técnicas específicas de control integrado de plagas y enfermedades. Las pioneras fueron Cataluña (Orden de 25 junio de 1992) y Andalucía (Decreto 215/1995) aunque la descripción detallada de umbrales de intervención para el control de plagas y enfermedades en cultivos fue posterior, mayoritariamente a partir del año 2002, año en el que se han publicado las bases generales de la Producción Integrada en España (Real Decreto 1201/2002).

24. Ley de Sanidad Vegetal (Ley 43/2002). Con esta ley se ha aprobado un nuevo marco jurídico para

la sanidad vegetal fundamentado en la doble necesidad de adaptarlo a los numerosos cambios que afectan a su ámbito de aplicación, así como adecuarlo a la configuración del Estado español como Estado autonómico y como Estado miembro de la Unión Europea.

25. Directiva 2009/128/EC. La comercialización y uso sostenible de los fitosanitarios en la EU se han regulado en la Unión Europea a través del Reglamento (CE) 1107/2009 y la Directiva 2009/128, quedando derogadas las anteriores directivas que supusieron una reducción drástica de materias activas comercializables (D 91/414/CEE y D 79/117/CEE). Esta ya famosa Directiva introduce la necesidad de la gestión integrada de los cultivos y de una formación especializada para el personal implicado en el control de plagas, enfermedades y malas hierbas.

Referencias

Abelleira, A.; Picoaga, A.; Mansilla, J. P.; Aguin, O. 2011. Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. *Plant Disease* 95: 776-776.

Andrés, M. F.; García-Arenal, F.; López, M. M.; Melgarejo, P. 1998. Patógenos de plantas descritos en España. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid

Brandl, M. T.; Cox, C. E.; Teplitski, M. 2013. *Salmonella* interactions with plants and their associated microbiota. *Phytopathology* 103: 316-325.

Cao, H.; Baldini, R. L.; Rahme, L. G. 2001. Common mechanisms for pathogens of plants and animals. *Annual Review of Phytopathology* 39: 259-284.

Cook, R. J. 2000. Advances in plant health management in the twentieth century. *Annual Review of Phytopathology* 38: 95-116.

Cuomo, C. A.; Güldener, U.; Xu, J.-R.; Trail, F.; Turgeon, B. G., et al. 2007. The *Fusarium graminearum* genome reveals a link between localized polymorphism and pathogen specialization. *Science* 317: 1400-1402.

- De Boer, S. H.; López, M. M.** 2012. New grower-friendly methods for plant pathogen monitoring. *Annual Review of Phytopathology* 50: 197-218.
- De Cal, A.; Gell, I.; Usall, J.; Viñas, I.; Melgarejo, P.** 2009. First report of brown rot caused by *Monilinia fructicola* in peach orchards in Ebro Valley, Spain. *Plant Disease* 93: 763-763.
- Derksen, H.; Rampitsch, C.; Daayf, F.** 2013. Signaling cross-talk in plant disease resistance. *Plant Science* 207: 79-87.
- Glasner, J. D.; Yang, C.-H.; Reverchon, S.; Hugouvieux-Cotte-Pattat, N.; Condemine, G., et al.** 2011. Genome sequence of the plant-pathogenic bacterium *Dickeya dadantii* 3937. *Journal of Bacteriology* 193: 2076-2077.
- Haegeman, A.; Jones, J. T.; Danchin, E. G. J.** 2011. Horizontal gene transfer in nematodes: A catalyst for plant parasitism? *Molecular Plant-Microbe Interactions* 24: 879-887.
- Henson, J. M.; French, R.** 1993. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Annual Review of Phytopathology* 31: 81-109.
- Jiang, R. H. Y.; Tyler, B. M.** 2012. Mechanisms and evolution of virulence in oomycetes. *Annual Review of Phytopathology* 50: 295-318.
- Jock, S.; Donat, V.; Lopez, M. M.; Bazzi, C.; Geider, K.** 2002. Following spread of fire blight in Western, Central and Southern Europe by molecular differentiation of *Erwinia amylovora* strains with PFGE analysis. *Environmental Microbiology* 4: 106-114.
- Jones, J. D. G.; Dangl, J. L.** 2006. The plant immune system. *Nature* 444: 323-329.
- Jordá, C.; Osa, J. M.** 1989. Un nuevo virus en España: El TSWV, Estudios de Fitopatología. V Congreso Nacional de la Sociedad Española de Fitopatología. Consejería de Agricultura, Industria y Comercio, Badajoz, pp. 35-40.
- Jordá, C.; Pérez, A. L.; Martínez-Culebras, P.; Abad, P.; Lacasa, A.; Guerrero, M. M.** 2001. First report of pepino mosaic virus on Tomato in Spain. *Plant Disease* 85: 1292-1292.
- Kearney, B.; Staskawicz, B. J.** 1990. Widespread distribution and fitness contribution of *Xanthomonas campestris* avirulence gene *avrBs2*. *Nature* 346: 385-386.
- Keen, N. T.** 2000. A century of Plant Pathology: A retrospective view on understanding host-parasite interactions. *Annual Review of Phytopathology* 38: 31-48.
- Landeras, E.; García, P.; Fernández, Y.; Braña, M.; Fernández-Alonso, O., et al.** 2005. Outbreak of pitch canker caused by *Fusarium circinatum* on *Pinus* spp. in Northern Spain. *Plant Disease* 89: 1015-1015.
- López, M. M.; Bertolini, E.; Olmos, A.; Caruso, P.; Gorris, M. T.; Llop, P.; Penyalver, R.; Cambra, M.** 2003. Innovative tools for detection of plant pathogenic viruses and bacteria. *International Microbiology* 6: 233-243.
- López, M. M.; Murillo, J.** 2012. Necesidades de formación especializada en Fitopatología de los profesionales de la Sanidad Vegetal. *Phytoma* 237: 26-28.
- Lu, R.; Martín-Hernández, A. M.; Peart, J. R.; Malcuit, I.; Baulcombe, D. C.** 2003. Virus-induced gene silencing in plants. *Methods* 30: 296-303.
- Mehrabi, R.; Bahkali, A. H.; Abd-El Salam, K. A.; Moslem, M.; Ben M'Barek, S.; Gohari, A. M.; Jashni, M. K.; Stergiopoulos, I.; Kema, G. H.; De Wit, P. J. G. M.** 2011. Horizontal gene and chromosome transfer in plant pathogenic fungi affecting host range. *FEMS Microbiology Reviews* 35: 542-554.
- Meyerowitz, E. M.** 1989. *Arabidopsis*, a useful weed. *Cell* 56: 263-269.
- Mittler, R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Moralejo, E.; Werres, S.** 2002. First report of *Phytophthora ramorum* on *Rhododendron* sp. in Spain. *Plant Disease* 86: 1052-1052.
- Moriones, E.; Arnó, J.; Accotto, G. P.; Noris, E.; Cavallarin, L.** 1993. First report of tomato yellow leaf curl virus in Spain. *Plant Disease* 77: 953.
- Nadarasah, G.; Stavrinides, J.** 2011. Insects as alternative hosts for phytopathogenic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 35: 555-575.
- Palacio-Bielsa, A.; López-Quilez, A.; Llorente, I.; Ruz, L.; López, M. M.; Cambra, M. A.** 2012. Criteria for efficient prevention of dissemination and successful eradication of *Erwinia amylovora* (the cause of fire blight) in Aragon, Spain. *Phytopathologia Mediterranea* 51: 505-518.
- Pallen, M. J.; Wren, B. W.** 2007. Bacterial pathogenomics. *Nature* 449: 835-842.
- Pérez-Sierra, A.; López-García, C.; León, M.; García-Jiménez, J.; Abad-Campos, P.; Jung, T.** 2013. Previously unrecorded low-temperature *Phytophthora* species associated with *Quercus* decline in a Mediterranean forest in eastern Spain. *Forest Pathology*, en prensa; DOI: 10.1111/efp.12037.
- Recasens, J.** 2012. Nace la Sociedad Española de Sanidad Vegetal (AESaVe) en defensa de

"formación y profesión" en esta disciplina. *Tierras* 192: 24-27.

Rodríguez-Palenzuela, P.; Matas, I.; Murillo, J.; López-Solanilla, E.; Bardaji, L., et al. 2010. Annotation and overview of the *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 draft genome reveals the virulence gene complement of a tumour-inducing pathogen of woody hosts. *Environmental Microbiology* 12: 1604-1620.

Segers, G. C.; van Wezel, R.; Zhang, X.; Hong, Y.; Nuss, D. L. 2006. Hypovirus papain-like protease p29 suppresses RNA silencing in the natural fungal host and in a heterologous plant system. *Eukaryotic Cell* 5: 896-904.

Segers, G. C.; Zhang, X.; Deng, F.; Sun, Q.; Nuss, D. L. 2007. Evidence that RNA silencing functions as an antiviral defense mechanism in fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 104: 12902-12906.

Sequeira, L. 2000. Legacy for the millennium: A century of progress in Plant Pathology. *Annual Review of Phytopathology* 38: 1-17.

Simpson, A. J. G.; Reinach, F. C.; Arruda, P.; Abreu, F. A.; Acencio, M., et al. 2000. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nature* 406: 151-157.

Spanu, P. D.; Abbott, J. C.; Amselem, J.; Burgis, T. A.; Soanes, D. M., et al. 2010. Genome expansion and gene loss in powdery mildew fungi reveal tradeoffs in extreme parasitism. *Science* 330: 1543-1546.

Vance, V.; Vaucheret, H. 2001. RNA Silencing in Plants--Defense and Counterdefense. *Science* 292: 2277-2280.

Whitham, S.; Dinesh-Kumar, S. P.; Choi, D.; Hehl, R.; Corr, C.; Baker, B. 1994. The product of the tobacco mosaic virus resistance gene N: Similarity to toll and the interleukin-1 receptor. *Cell* 78: 1101-1115.