

Detección de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* y *Phytophthora ramorum* asociadas a daños en viveros de propagación de *Camellia sinensis*

INTRODUCCIÓN

La planta de té, *Camellia sinensis*, es una especie muy extendida a nivel mundial que se cultiva en Galicia para su producción comercial desde hace más de 10 años. La propagación por esqueje es el método de multiplicación más utilizado, proceso durante el cual, pueden presentarse diversos problemas bióticos y abióticos que dificultan la obtención de una nueva planta.



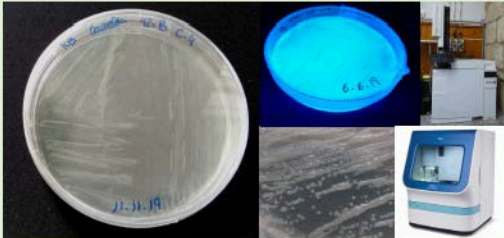
Durante los años 2018 y 2019, en el proceso de propagación por esqueje de diferentes clones de *Camellia sinensis*, en los invernaderos e instalaciones de la Estación Fitopatológica Areeiro (Pontevedra) se observaron manchas necróticas y acuosas en numerosas hojas. Las manchas eran inicialmente pequeñas, pero progresivamente aumentaron de tamaño y no tenían una distribución uniforme en la hoja. Estos síntomas se extendieron rápidamente a las plantas próximas y afectaron a los diferentes clones. Las hojas más dañadas cayeron prematuramente, provocando en muchos casos la muerte del esqueje, sobre todo cuando los síntomas aparecían en las primeras etapas del enraizamiento.



MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras se sembraron en diferentes medios de cultivo generales y específicos de bacterias, hongos y oomicetos. Las colonias bacterianas obtenidas fueron caracterizadas por diferentes test bioquímicos, perfil de ácidos grasos, y técnicas moleculares. Se llevó a cabo también la caracterización morfológica y molecular de los oomicetos aislados.

ANÁLISIS BACTERIAS



HONGOS Y OOMICETOS

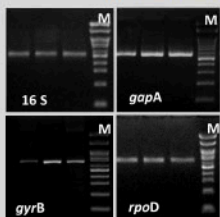


RESULTADOS

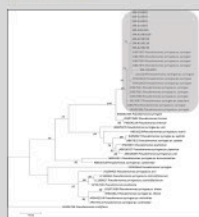
Se aislaron, de forma simultánea, una bacteria identificada como *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, una vez realizadas las pruebas bioquímicas, moleculares y de patogenicidad, y el oomiceto *Phytophthora ramorum*. Ambos organismos son polífagos y causan grandes pérdidas económicas en cultivos importantes, incluidos los del género *Camellia*. Dadas las condiciones de cultivo, la presencia de estos patógenos podría ser limitante durante el proceso de propagación.

Pseudomonas syringae pv. *syringae*

Identificación molecular



Geles de agarosa al 2% mostrando los fragmentos de ADN obtenidos por amplificación de la región 16S, y de los genes *gapA*, *gyrB* y *rpoD*. M: marcador.



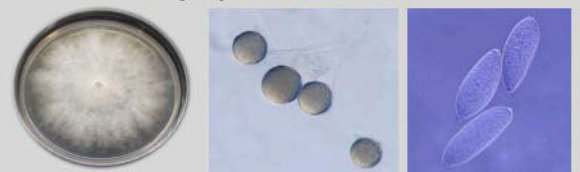
Árbol filogenético de las secuencias de *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* obtenidas en este trabajo (códigos EFA en negrita). 3

Test de patogenicidad

Los primeros síntomas de la enfermedad en las hojas de *Camellia sinensis* se observaron seis días después de la inoculación. Aparecieron manchas necróticas que evolucionaron a manchas acuosas y con presencia de exudados, de donde se aisló *P. syringae* pv. *syringae*.



Phytophthora ramorum



Aislado en V8, clamidosporas y esporangios de *P. ramorum*.



Gel de agarosa al 2% mostrando el fragmento de ADN obtenido de 291 pb por nested-PCR que se corresponde con *P. ramorum*. M: marcador

Descripción	Secuencia	WGS	Strat	Clon	Cl	Pos	Acc	Accesorio
Phytophthora ramorum (EFA01)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA02)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA03)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA04)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA05)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA06)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA07)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA08)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA09)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+
Phytophthora ramorum (EFA10)	Phytophthora ramorum	+	+	+	+	+	+	+