

# Incidencia y severidad de escoba de bruja asociado a la proliferación de la manzana en *Rosaceas*

Incidence and severity of witches' broom associated with the proliferation of apple in *Rosaceas*

Yolanda Isabel Hernández-Hernández<sup>1\*</sup>, Abiel Sánchez-Arizpe<sup>1</sup>,  
Ma. Elizabeth Galindo-Cepeda<sup>1</sup>, Yisa María Ochoa-Fuentes<sup>1</sup>,  
Alberto Flores-Olivas<sup>1</sup>, Alejandro de la Cruz-Armas<sup>1</sup>

Departamento de Parasitología<sup>1</sup>, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, CP 25315, Saltillo, Coah., México. E-mail: isabel\_316@hotmail.com (\*Autor responsable) Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coah., México. CP 25315, Tel.: +52-844-411 0324. E-mail: egarcia@uaaan.mx (\*Autor responsable).

## RESUMEN

En la presente investigación se realizó una prospección visual en una huerta de manzano (*Malus domestica*), con la finalidad de evaluar la posible extensión de la enfermedad: proliferación de la manzana (AP) en la Sierra de Arteaga. La importancia de esta enfermedad radica en los reportes de su presencia en especies de la familia *Rosaceae*, que incluye al manzano y el capulín (*Prunus salicifolia*); en este último fue en el que se observaron los síntomas, por lo que se le realizaron muestreos dirigidos, en árboles ubicados en los límites de la huerta que se utilizan como barrera biológica. En septiembre, la incidencia en el capulín fue de 0.5%. Paralelamente se evaluó por inspección visual la incidencia de la enfermedad en 200 árboles de la huerta. Se evaluó la expresión de síntomas de la enfermedad de AP a lo largo del año y se obtuvo una severidad del 40% en árboles infectados, aunque no se descartó que el fitoplasma estuviera presente en árboles asintomáticos.

**Palabras clave:** incidencia, severidad, sintomatología, fitoplasma, *Rosaceae*, prospección

## ABSTRACT

In this research a survey was conducted in an orchard of apple in order to assess the possible spread of the disease apple proliferation (AP) in the Sierra de Arteaga. The importance of this disease lies in the reports of the presence of species of the *Rosaceae* family, which includes the apple and cherry tree, which was where the symptoms were observed, therefore directed sampling on trees latter located in performed limits orchard used as biological barrier visual survey for observing characteristic symptoms was performed. Parallel has evaluated the incidence of the disease in the orchard by visual inspection of 200 trees. In September, the incidence was 0.5% and the capulín the species concerned.

We assessed the expression of disease symptoms AP throughout the year by obtaining a 40% severity in infected trees but it is not excluded that this phytoplasma is present in asymptomatic trees.

**Key words:** incidence, severity, symptoms, phytoplasma, *Rosaceae*, prospecting

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de la proliferación de la manzana (AP, que presenta una sintomatología característica asociada, está distribuida en: Austria, Bélgica, Bulgaria, Grecia, Noruega, Rumania, Suiza, la antigua URSS y en la antigua Yugoslavia (Németh, 1986), además de la India y Sudáfrica (Seemüller, 1990). La severidad de la enfermedad depende de varios factores, como de la combinación porta injerto-variedad (Seemüller *et al.*, 1998), o de las condiciones edáficas y climatológicas (Schneider, 1970).

La AP es una enfermedad grave de la manzana que la causa un fitoplasma clasificado en el grupo de la Proliferación de la Manzana (grupo 16SrX) (Seemüller *et al.*, 1994). El patógeno también puede afectar a la fruta de hueso (Lee *et al.*, 1995; Navratil *et al.*, 2001; Paltrinieri *et al.*, 2001; Mehle *et al.*, 2006; Cieslinska y Morgas, 2011), y provocar el decaimiento del peral (*Candidatus Fitoplasmas pyri*) (Seemüller *et al.*, 1994). Por el contrario, enfermedades que infectan fruta de hueso las causan *Candidatus Fitoplasmas pruni*, que son miembros del grupo 16SrIII (enfermedad occidental - X) de América del Norte (Poggi Pollini *et al.*, 2001; Marcone *et al.*, 2010). *Candidatus Fitoplasmas mali* se encuentra en los tubos cribosos del floema. El fitoplasma es altamente pleomórfico, de aproximadamente 200 a 800 nm de diámetro. El fitoplasma está delimitado por una membrana citoplasmática trilaminar, pero carece de una pared celular rígida (Seemüller, 1990).

La caracterización molecular de los genes que codifican las proteínas ribosomales L22 y S3 reveló la presencia de una mayor heterogeneidad genética dentro de los aislados de *Candidatus fitoplasmas mali* en cuatro subtipos: RPX - A, RPX - B, RPX-C, y RPX - D (Martini *et al.*, 2006, 2008).

Los análisis de fragmentos ribosomal y de ADN no ribosomal de poblaciones de *Ca. fitoplasmas mali* desde el noroeste de Italia, revelaron la presencia de tres subtipos de fitoplasmas AP: AT - 1, A -2 y AP -15, y reportaron la identificación de al menos dos linajes genéticos fitoplasmiales entre los fitoplasmas AP aislados del subtipo AT- 1 designados AT -1a y AT - 1b (Casati *et al.*, 2010).

Los fitoplasmas del grupo de proliferación de la manzana se han reportado sólo en Europa, con la excepción del agente del rizado de melocotón amarillo, que se existe también en Estados Unidos. El amari-

llamiento y enrollamiento de la hoja del melocotón y el decaimiento del peral son fitoplasmas estrechamente relacionados entre sí (Kirkpatrick *et al.*, 1994; Cisón *et al.*, 1994). La proliferación de la manzana es uno de los tres fitoplasmas pertenecientes al grupo AP, que en el 2004 se propuso para darle cabida como especie dentro del nuevo género *Candidatus fitoplasma mali* (Anon, 2004; Seemüller y Schneider, 2004).

La transmisión del fitoplasma AP se produce a través de las raíces naturales fusiones / injertos de raíz en los huertos de manzanos de mediana edad y mayores (Bliefernicht y Krczal, 1995; Vindimian *et al.*, 2002; Baric *et al.*, 2008; Ciccotti 2008). Psíldos y saltahojas se han reportado como vectores de la enfermedad (Seemüller, 1990). No existen semillas o polen que transmitan la enfermedad referida (Seidl y Komárková, 1974). *Candidatus fitoplasma mali* se ha transmitido comúnmente por injerto. También hay informes de su transmisión a *Catharanthus roseus* (bígaro de Madagascar) al utilizar la planta parasitaria *Cuscuta spp.* (*Cuscuta*) (Marwitz *et al.*, 1974; Heintz, 1986). La proliferación de la manzana a menudo se difunde en madera vástago; aunque el agente causal no parece ser sistémico, los árboles pueden producir altas proporciones de brotes con apariencia sana, pero infectados.

El fitoplasma AP se transmite de una manera persistente por propagación y por insectos vectores *Cacopsylla picta* y *C. melanoneura*. En Italia, para *C. melanoneura* y *C. picta*, los adultos migran de sus plantas huésped de hibernación en los huertos de manzanos de finales de enero hasta febrero, y de finales de marzo hasta abril, respectivamente. Ambas especies se reproducen en la manzana a partir de la generación de las hojas de la planta huésped, hasta junio o julio (Mattedi *et al.*, 2008). Los insectos transmiten los fitoplasmas como adultos y ninfas (Tedeschi y Alma, 2004).

Existen estudios realizados in vivo donde se demuestra que plantas infectadas por determinados fitoplasmas tienen la capacidad de recuperarse, siempre y cuando el insecto vector no infecte nuevamente a la planta; los estudios muestran que esta recuperación se da después de tres a cuatro años de infectada (Osler *et al.*, 2003). La recuperación supone una desaparición de síntomas (Mutton *et al.*, 2002), sin que esto implique la erradicación del fitoplasma (Seemüller *et al.*, 1998a); sin embargo, recientes estudios in vivo y diferentes géneros de *Prunus* muestran una disminución, e incluso desaparición de fitoplasmas en las hojas (Kison & Seemüller, 2001; Osler *et al.*, 2003).

La recuperación siempre está relacionada a condiciones edáficas, climáticas y de control del vector.

Al considerar los estudios señalados, uno de los objetivos de esta investigación fue evaluar, mediante un muestreo dirigido, la incidencia de esta enfermedad en arboles con síntomas característicos en la sierra de Arteaga. Estos muestreos, realizados durante dos años, indicaron que los síntomas aumentaron de un año a otro; paralelamente se investigaron los síntomas característicos de la enfermedad en dos especies de rosáceas.

Por último, es importante destacar que los síntomas de esta enfermedad se detectaron en la Sierra de Arteaga desde los años noventa, sin que a la fecha se le haya realizado un análisis, por lo que se consideró necesario llevar a cabo este trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En abril del año 2015 se evaluó la extensión de la enfermedad AP en una huerta de manzano de la variedad Golden en Los Lirios, localidad de la Sierra de Arteaga, para lo cual se realizó una prospección visual en un total de 200 árboles de manzano (*Malus domestica*) y capulín (*Prunus salicifolia*), distribuidos en una hectárea. En cada uno de los árboles se registró ausencia o presencia de los síntomas de la enfermedad. Se consideró que un árbol estaba afectado cuando mostraba síntomas característicos de escoba de bruja o enrollamientos suave de las hojas, brotes pequeños, cambio de color de las hojas, entre otros.

Se estudió la incidencia de AP de 200 árboles en los que se habían registrado síntomas de la enfermedad. Dentro de la huerta se identificaron las dos especies de Rosáceas. En cada una de ellas se evaluó la incidencia de la enfermedad por un reconocimiento

visual, con un muestreo en W en el que se tomaron muestras de 50 árboles por cada punto.

Se registró la expresión de síntomas de la enfermedad en capulín. Estos árboles fueron escogidos por presentar síntomas de la enfermedad. También se escogieron arboles de manzanos aparentemente sanos.

Durante el periodo 2014-2015 se muestrearon mensualmente los árboles marcados para medir la severidad del síntoma en árboles infectados.

La estimación de severidad de la infección de los arboles dañados se realizó mediante el sistema de evaluación de cuatro clases, recomendada en el manual de tratamientos fitosanitarios elaborado por la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) en 2005. Se delimitó la copa del árbol y se consideró su volumen como el 100%; posteriormente se contó el número de escobas de bruja en la copa y se les asignó un valor numérico de acuerdo al nivel de infección (Cuadro 1).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La incidencia de la enfermedad por prospección visual solo varió entre especies, ya que el capulín tuvo 0.5% de incidencia, mientras que el manzano tuvo síntomas leves de infección (Figura 2).

En capulín se observó que la masa vegetativa disminuyó y hubo una sobre producción de yemas apicales. Los cambios de coloración en hojas (amarillamiento- enrojecimiento) fueron predominantes en el mes de agosto.

Hubo diferencias en el porcentaje de árboles que expresaron síntomas de estar infectados en la misma huerta. La incidencia de la enfermedad pudo variar en función de varios factores: edad de la plantación, estado sanitario de la huerta, ubicación geográfica, variaciones locales de temperatura y humedad, ca-

**Cuadro 1.** Volumen infectado de la copa en el sistema de cuatro clases y grados de infección.

| Grado de infección | Daño   | Volumen infectado de la copa [%] |
|--------------------|--------|----------------------------------|
| 1                  | leve   | 1-30                             |
| 2                  | medio  | 31-60                            |
| 3                  | fuerte | 61-90                            |



**Figura 2.** Presencia de síntomas en árboles de la huerta el Puerto, en Cañón de los Lirios, municipio de Arteaga, Coahuila.

racterísticas que los edafológicas, así como la densidad de población del vector.

Los productores hicieron referencia que la mayor incidencia de síntomas de la enfermedad fue durante los años noventa; nuestras observaciones mostraron un 0.5% de árboles con síntomas de afectación por el fitoplasma.

La severidad de los daños causados por la enfermedad fue mayor en el capulín, ya árboles mostraron un daño de 80%.

## CONCLUSIÓN

El capulín es una especie susceptible al fitoplasma, ya que muestra una sintomatología característica de este agente causal en el cañón de Los Lirios, municipio de Arteaga, Coahuila, México. La incidencia de los síntomas fue difícil de estimar, ya que no todos los árboles los manifestaban.

Los síntomas son más severos en capulín, en comparación de los manzanos. Esto se debe al poco

manejo que se le da esta especie, al no considerarse con importancia económica, ya que se utiliza como una barrera para evitar el arribo de plagas.

## LITERATURA CITADA

- ANON, 2004. Candidatus Phytoplasma, a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(4):1243-1255.
- BLIEFERNICH, K. y KRCZAL, G., 1995. Epidemiological studies on apple proliferation disease in Southern Germany. *Acta Horticulturae*, 386:444-453.
- COMISIÓN NACIONAL FORESTAL (Conafor). 2005. Tratamientos contra plantas parásitas. Evaluación y tratamiento para muérdago verdadero (*Psittacanthus*). Manual de tratamientos fitosanitarios. Mexico. 78 p.
- JARAUSCH B., Schwind N., Jarausch W, Krczal G., Dickler E. and Seemüller E., 2003. First report of *Cacopsylla picta* as a vector of apple proliferation phytoplasma in Germany. *Plant Disease*, 87(1):101; 2 ref.

- JARAUSCH W., Saillard C., Dosba F. and Bové J-M, 1994. Differentiation of mycoplasma-like organisms (MLOs) in European fruit trees by PCR using specific primers derived from the sequence of a chromosomal fragment of the apple proliferation MLO. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(8):2916-2923.
- KIRKPATRICK, B.C., Smart, C., Gardener, S., Gao, J.-L., Ahrens, U., M. Surer, R., Schneider, B., Daire, X., 1994. Phylogenetic relationship of plant pathogenic MLOs established by 16S/23S rDNA spacer sequences. *IOM Letters*, 3:228-229.
- KISON, H., Seemüller, E., 2001. Differences in strain virulence of the European stone fruits yellows phytoplasma and susceptibility of stone fruit trees on various rootstocks to this pathogen. *J. Phytopathol.* 149,553-541.
- LEE, I.M., Bertaccini, A., Vibio, M., Gundersen, D.E., 1995. Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. *Phytopathology*, 85(6):728-735.
- MARTINI M., Susuri L., Susuri H.Sh., Carraro L., 2006. First report of apple proliferation and pear decline phytoplasmas in Kosovo. *Journal of Plant Pathology*, 88(1):125. <http://www.agr.unipi.it/sipav/jpp/index.html>
- MUTTON, P., Boccalon, W., Bressan, S., Coassin, C., Colautti, M., Del Cont, B.D., Florean, A., Zuchiatti, D., Pavon, F., Mucignat, D., Frausin, C., Antoniazzi, P., Stefanelli, G., Villani, A., 2002. Legno nero della vite in vigneti di chardonnay del Friuli-venezia Giulia. *inf. fitopatol.* 1,52-59.
- NÉMETH, M., 1986. *Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees*. Lancaster, Boston, USA/Dordrecht, Netherlands: M. Nijhoff Publishers, 841 pp.
- OSLER, R., Carro, L., Ermacord P., Ferrini, F., Loi, F., Loschi, A., Martini, M., Mutton, P.B., Refatti, E., Rougini, A., 2003. controversial practice to eradicate grape yellows caused by phytoplasmas. 14<sup>th</sup> Meeting of the international council for the study of virus-like diseases of the grape vine (ICGV). September 12-17, Locorotondo, Italy.
- SCHNEIDER H., 1970. Graft transmission and host range of pear decline causal agent, phytopathol. 60, 204-207.
- SEEMÜLLER E., 1990. Apple proliferation. In: *Compendium of apple and pear diseases*. St Paul, Minnesota, USA: American Phytopathological Society, 67-68.
- SEEMÜLLER E., Schneider B., 2004. 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri' and 'Candidatus Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(4):1217-1266.
- SEEMÜLLER E., Schneider B, Mäurer R., Ahrens U., Daire X., Kison H., Lorenz K.H., Firrao G., Avinent L., Sears BB, Stackebrandt E., 1994. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(3):440-446
- SEIDL V, 1980. Some results of several years' study on apple proliferation disease. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricp*, 15:241-245
- TEDESCHI R., Alama A., 2004. Transmission of apple proliferation phytoplasma by *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(1):8-13.

