

CONTROL QUÍMICO DE PSILA Y SU INFLUENCIA SOBRE EL DECAIMIENTO DEL PERAL Y DESÓRDENES ASOCIADOS.

Mujica, Valentina; Silvera, Mariana; Goncalvez, Lucía; Leoni, Carolina y Maeso, Diego¹

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, INIA Las Brujas

e-mail: dmaeso@inia.org.uy

Palabras clave: psila, *Cacopsylla pyricola*, decaimiento del peral, *Candidatus Phytoplasma pyri*

Introducción

Actualmente existe una tendencia a reducir y restringir el uso de plaguicidas, básicamente para asegurar la inocuidad de los alimentos y minimizar los efectos nocivos sobre el medio ambiente, productores y trabajadores. Esto genera consecuencias sobre el conjunto de plagas y enfermedades que se que se deben manejar. En el caso de la psila del peral, su incidencia e importancia ha cambiado, pasando de ser una plaga secundaria a ser una primaria. Al disminuir el uso e impacto de los insecticidas dirigidos a las plagas primarias, se generó un adelanto en el momento de aparición de esta plaga, a la vez que los ataques que se presentan son más agresivos. Buena parte de la disminución de uso de insecticidas se debe a la exitosa aplicación de la técnica de manejo regional de plagas para carpocapsa (*Cydia pomonella*) y grafolita (*Cydia molesta*) (Duarte *et al.*, 2014). Esto a su vez acrecienta la necesidad de identificar estrategias para el control compatibles con el programa recién mencionado, promoviendo alternativas de mínimo uso de agroquímicos y maximización de las alternativas biológicas.

Adicionalmente en los últimos años se ha confirmado la presencia de la enfermedad conocida como decaimiento del peral (pear decline) en nuestro país (Maeso *et al.* 2012). La misma es ocasionada por un fitoplasma (*Candidatus Phytoplasma pyri*), organismo relacionado con las bacterias, habitante del floema de perales y membrilleros. Su presencia en este tejido ocasiona perjuicios en el transporte de savia elaborada en las plantas injertadas. Éstas pueden presentar dos tipos de síntomas de acuerdo a su sensibilidad. El más severo se trata de un marchitamiento rápido provocado por la muerte del pie y se registra en plantas sobre portainjertos asiáticos (*Pyrus serotina*) y algunos pies de *Pyrus comunis*. Los síntomas más comunes corresponden al llamado “decaimiento lento” que incluye el enrojecimiento prematuro de las hojas con plegado hacia el haz en el sentido de la nervadura principal y de ésta hacia el ápice (epinastia), caída prematura de hojas y cambio de su consistencia volviéndose quebradizas y coriáceas, además de afectar la brotación-floración-vigor en la primavera siguiente. La intensidad del decaimiento lento depende de la sensibilidad de la combinación variedad-portainjerto siendo los síntomas más severos en las combinaciones menos vigorosas, principalmente aquellas sobre membrilleros.

El decaimiento del peral es transmitido por la psila, siendo este insecto la principal fuente de supervivencia entre temporadas y de diseminación entre plantas. Al comienzo de la temporada la proporción de insectos y plantas infectadas es baja aumentando a medida que avanza la estación. Entre las medidas de manejo de la enfermedad se mencionan el uso de material propagativo libre de la enfermedad y poco sensible a la misma, la erradicación de plantas enfermas y debilitadas por esta causa y el control de psila fundamentalmente en etapas tempranas del ciclo de cultivo (Seemuller, 1989; Giunchedi, 2003).

Durante las temporadas 2012-13 y 2013-2014 se realizó este trabajo con los objetivos de:

- 1) determinar los momentos óptimos para el control de psila en las etapas finales del ciclo (a partir de fin de febrero).
- 2) determinar el efecto del control otoñal de la plaga sobre la incidencia de decaimiento y desórdenes de floración.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en un monte de pera Abate Fetel injertado sobre membrillero Adams de 7 años de edad en INIA Las Brujas durante 2013 y 2014. La distancia de plantación entre filas fue de 3.5 m y el diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con cinco repeticiones. Los bloques correspondieron a diferentes sistemas de conducción (bloque 1: tres ejes, 1,5 m entre plantas, 1904 pl./ha; bloque 2: dos ejes, 1 m entre plantas, 2857 pl./ha; bloques 3, 4 y 5: eje central, 0,5 m entre plantas, 5714 pl./ha). Las parcelas contaban con un número variable de plantas (5-15).

Se realizaron aplicaciones de insecticidas con atomizadora de mochila a motor (Sthil) y para evitar la deriva entre parcelas se utilizaron cortinas plásticas. El producto utilizado correspondió a Delegate WG de Agro Dow Science (Spinetoram) a una dosis de 15 g/100 l + 250 cc aceite. El gasto por tratamiento fue de 10 l (a punto de goteo), equivalente a 1000 l/ha en base al número de plantas. Los tratamientos fueron: 1- Testigo sin tratar, 2- Cinco aplicaciones quincenales (a partir de 1/3/2013 y 3/3/2014), 3- Cuatro aplicaciones quincenales (a partir de 15/3/2013 y 17/3/2014), 4- Tres aplicaciones quincenales (a partir de 1/4/2013 y 31/3/2014), 5- Dos aplicaciones quincenales (a partir de 15/4/2013 y 14/4/2014), 6- Una aplicación (30/4/2013 y 28/4/2014).

Seguimiento de poblaciones de psila. Se evaluó periódicamente el número de ninfas, presencia de adultos y presencia de mielecilla por 30 hojas por parcela. La población de adultos de psila fue monitoreada semanalmente mediante seis trampas amarillas engomadas (20 x 10 cm) distribuidas dentro del ensayo.

Grado de enrojecimiento Se registró el grado de enrojecimiento de cada planta usando una escala 0-5 (donde 0 = sin enrojecimiento, 1= algunas hojas que comienzan a enrojecer, 2= menos del 50% del follaje con inicio de enrojecimiento, 3= más del 50% del follaje con inicio de enrojecimiento, 4= más del 50% del follaje enrojecido y 5= total del follaje con enrojecimiento intenso) en seis oportunidades por temporada a partir de fines de febrero.

Detección de fitoplasma en plantas e insectos

La presencia de *CandidatusPhytoplasma pyri* fue analizada en el floema de la base de ramas de 1-2 años y en grupos de 5-10 insectos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se utilizaron los primers específicos para fitoplasmas de grupo SrX (f01: 5'CGGAAACTTTTAGTTTCAGT 3' y r01: 5' AAGTGCCCAACTAAATGAT 3') con el siguiente ciclo: 94° C 1 minuto, 55° C 1 minuto y 15 segundos (34 repeticiones), 72° C 1 minuto y 30 segundos y 72° C 10 minutos (Lorenz *et al.*, 1995). Para la extracción de ADN se siguió el protocolo de Marzachi *et al.* (1999).

El día previo a cada aplicación de insecticida se tomaron dos muestras por parcela correspondientes a plantas con follaje verde y enrojecido respectivamente en tres repeticiones (13/3, 2/4, 16/4, 29/4 y 14/5/2013 y 27/2, 13/3, 27/3, 9/4, 23/4, 8/5/2014). Totalizando 15 y 18 plantas con follaje verde y 15 y 18 enrojecido por tratamiento en cada temporada.

A su vez, en el monte evaluado se colectaron periódicamente psilas las cuales fueron analizadas en grupos de 5-10 individuos según disponibilidad.

Floración. Se evaluó la calidad de la floración, determinando los porcentajes de yemas muertas, de yemas brotadas sin corimbo floral, de yemas con 1-3 flores por corimbo y con 4 o más flores en las plantas centrales de cada parcela durante la floración (24/9/13 y 17/9/14).

Análisis de datos. Los datos de las poblaciones de psila, de la incidencia de enrojecimiento y la calidad de la floración se analizaron mediante ANOVA y posterior separación de medias por la prueba de contrastes múltiples de Duncan. Para determinar si existió asociación entre presencia de enrojecimiento y detección de fitoplasmas en las diferentes fechas y en el total de cada estación se utilizó la prueba de Chi².

Resultados y discusión.

Temporada 2013

Seguimiento de poblaciones de psila.

En la Figura 1 se muestra la evolución del número de individuos de psila/día capturados en trampas amarillas pegajosas en el experimento. En los Cuadros 1, 2 y 3 se muestran los resultados de las evaluaciones realizadas en 2013 del número de ninfas, presencia de adultos y presencia de mielecilla cada 30 hojas.

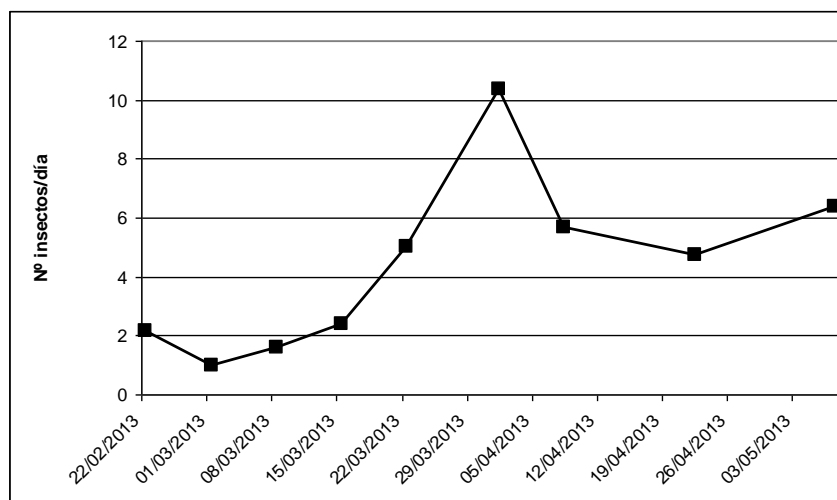


Figura 1. Número de psilas/día capturadas en el experimento en trampas amarillas pegajosas durante la temporada 2013.

Cuadro 1. Número de ninfas cada 30 hojas. Temporada 2013.

Tratamientos	Fecha de evaluación					
	01/03	08/03	22/03	08/04	22/04	07/05
1. Testigo sin tratar	13.8 ab ^{1,2}	15.8 ab ²	10.6 bc ²	17.0 b ³	39.2 cd ³	45.0 c ³
2. Cinco aplicaciones	3.6 a	5.4 a	1.4 a	0.2 a	0.6 a	1.0 a
3. Cuatro aplicaciones	10.0 ab	11.2 ab	4.4 ab	2.2 a	2.2 a	1.6 a
4. Tres aplicaciones	12.0 ab	15.0 ab	11.0 bc	12.0 b	11.8 b	6.2 a
5. Dos aplicaciones	11.2 ab	13.0 ab	7.4 abc	16.6 b	25.3 c	11.6 b
6. Una aplicación	20.8 b	26.4 b	15.4 c	25.6 c	42.6 d	40.4 c
CV ³	36.1	36	37	21.6	22.7	24

¹ Datos originales que fueron transformados por $\sqrt{x+1/2}$ para su análisis² Las medias seguidas por igual letra no difieren significativamente al 10% por la prueba Duncan de rangos múltiples³ Las medias seguidas por igual letra no difieren significativamente al 1% por la prueba Duncan de rangos múltiples**Cuadro 2.** Presencia de adultos por tratamiento. Temporada 2013.

Tratamientos	Fecha de evaluación					
	01/03	08/03	22/03	08/04	22/04	07/05
1. Testigo sin tratar	4.0ab ^{1,2}	5.0 b ²	7.8 ab ²	9.6 b ³	19.2 d ³	16.0 b ³
2. Cinco aplicaciones	1.6 a	1.6 a	1.8 a	1.8 a	2.4 a	5.0 a
3. Cuatro aplicaciones	1.6 a	1.6 a	3.4 ab	5.4 b	3.4 ab	5.6 a
4. Tres aplicaciones	2.8 ab	2.6 ab	7.2 ab	6.4 b	7.6 bc	6.4 a
5. Dos aplicaciones	3.0 ab	3.6 ab	8.0 b	7.6 b	13.8 cd	21.6 b
6. Una aplicación	5.8 b	6.0 b	8.0 b	7.8 b	21.4 d	17.6 b
Coefficiente de variación	31	33	35	25	24	29

¹ Datos originales que fueron transformados por $\sqrt{x+1/2}$ para su análisis² Las medias seguidas por igual letra no difieren significativamente al 5% por la prueba Duncan de rangos múltiples³ Las medias seguidas por igual letra no difieren significativamente al 1% por la prueba Duncan de rangos múltiples**Cuadro 3.** Presencia de mielecilla. Temporada 2013.

Tratamientos	Fecha de evaluación				
	01/03	08/03	22/03	08/04	22/04
1. Testigo sin tratar	4.2 c ^{1,2}	4.2 c ²	3.4 b ²	4.8 c ²	5.0 d ²
2. Cinco aplicaciones	2.6 ab	2.6 ab	0.4 a	0.4 a	0.2 a
3. Cuatro aplicaciones	3.8 bc	3.8 bc	2.4 b	2.0 b	1.2 b
4. Tres aplicaciones	2.6 a	2.6 a	3.8 b	2.6 b	3.0 c
5. Dos aplicaciones	3.8 bc	3.8 bc	3.2 b	4.8 c	4.4 d
6. Una aplicación	4.8 c	4.8 c	3.8 b	4.8 c	4.8 d
Coefficiente de variación	11	12	17	12	11

¹ Datos originales que fueron transformados por $\sqrt{x+1/2}$ para su análisis² Las medias seguidas por igual letra no difieren significativamente al 1% por la prueba Duncan de rangos múltiples

Grado de enrojecimiento

En el cuadro 4 se muestran los resultados de la evaluación de enrojecimiento correspondientes a la temporada 2013. Los tratamientos 3 y 2 mostraron mayor grado de enrojecimiento a fin de temporada.

Cuadro 4. Evolución del grado de intensidad de enrojecimiento durante la temporada 2013.

Tratamientos	Fecha de evaluación				
	15/02	08/03	26/03	12/04	26/04
1. Testigo sin tratar	0.3 ^{1,2}	1.1	1.8	2.1	2.3 a ³
2. Cinco aplicaciones	0.5	1.0	1.6	2.3	3.2 b
3. Cuatro aplicaciones	0.8	1.7	2.2	3.0	4.1 c
4. Tres aplicaciones	1.0	1.4	1.9	2.6	3.0 ab
5. Dos aplicaciones	0.7	1.3	2.0	2.5	3.0 ab
6. Una aplicación	0.5	1.3	1.8	2.3	2.5 ab
Coefficiente de variación	70	38	26	23	19.5

¹ Datos correspondientes a una escala 0-5 donde 0 = sin enrojecimiento, 1= algunas hojas que comienzan a enrojecer, 2= menos del 50% del follaje con inicio de enrojecimiento, 3= más del 50% del follaje con inicio de enrojecimiento, 4= más del 50% del follaje enrojecido y 5= total del follaje con enrojecimiento intenso.

² No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

³ Los valores seguidos por igual letra no difieren significativamente por la prueba Duncan de rangos múltiples al 5%.

Detección de fitoplasma en plantas

En total se detectó el fitoplasma en 14 muestras, siete en la primer fecha de muestreo (13/3, una del tratamiento 3, tres del 4 y tres del 5), tres correspondientes a la segunda fecha de muestreo (2/4, tratamientos 2, 3 y 4), y cuatro en la tercera fecha de muestreo (16/4, tratamientos 2, 3 y 5) (Figura 3). La detección en las tres primeras fechas de muestreo sugiere que la infección pudo haber sido previa al comienzo de los tratamientos evaluados, lo cual explicaría la falta de efecto de los tratamientos de insecticidas en la trasmisión y el grado de enrojecimiento.

A pesar de que no se encontró asociación entre detección y presencia de coloración rojiza la mayoría de las detecciones de fitoplasmas se dieron en plantas con enrojecimiento (10 frente a 4) y a su vez principalmente en los tratamientos 2, 3, y 4 los cuales también presentaron mayor grado de enrojecimiento.

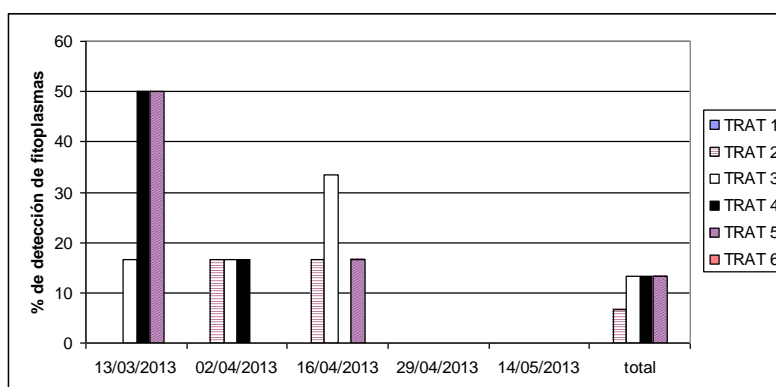


Figura 3. Porcentaje de detección de fitoplasmas en los tratamientos evaluados por PCR en los diferentes momentos de muestreo y en el total de muestras de la temporada.

Detección de fitoplasma en insectos

Se colectaron entre 38-53 insectos adultos en todas las fechas de muestreo que se analizaron en grupos de 5-10 insectos. El porcentaje de grupos con detección de fitoplasmas fue alto y aumentó hacia el fin de temporada coincidiendo con lo citado en la bibliografía. De acuerdo a estos datos al comienzo del experimento ya existía un porcentaje apreciable de vectores

portadores de fitoplasmas con capacidad para transmitir la enfermedad previo a la aplicación de los tratamientos (Figura 4).

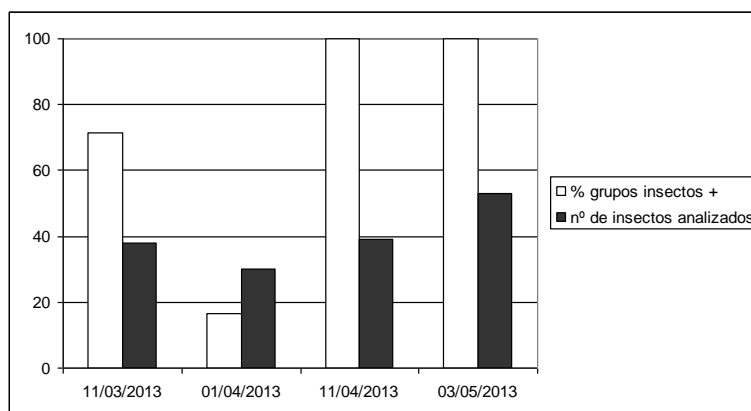


Figura 4. Número total de insectos analizados por PCR y porcentaje de detección de fitoplasmas en los mismos.

Efecto sobre la floración.

En esta temporada no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros evaluados oscilando los porcentajes de yemas muertas y brotadas sin corimbo floral entre 1.4-4.1, el de 1-3 flores entre 0.8-3.1 y el de >4 flores entre 90-95%.

Temporada 2014

Seguimiento de poblaciones de psila.

En la Figura 5 se muestra la evolución del número de individuos de psila/día capturados en trampas amarillas pegajosas en 2014 el cual fue notoriamente inferior a 2013. Únicamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de ninfas cada 30 hojas y presencia de mielecilla en la evaluación del 24/3 (Cuadro 6).

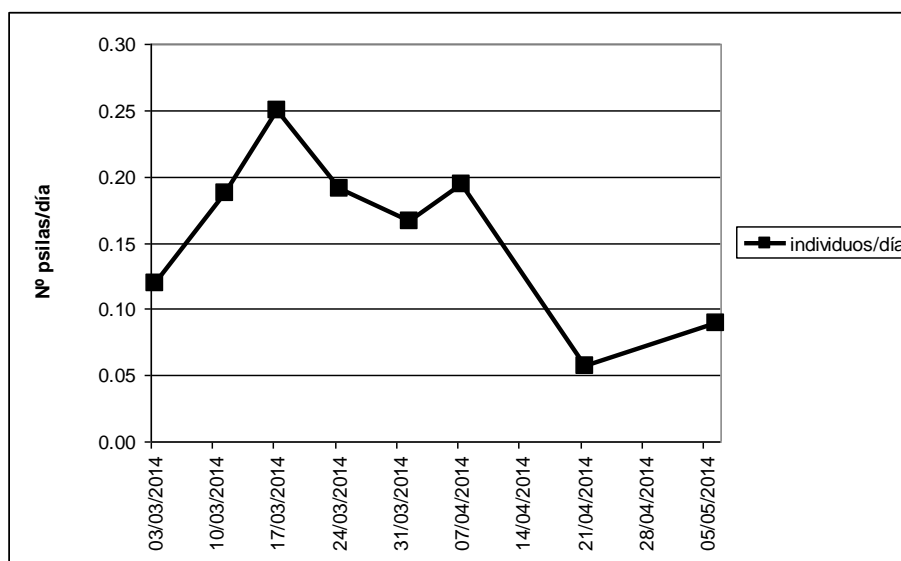


Figura 5. Número de individuos/día capturados en trampas amarillas pegajosas en 2014.

Cuadro 6. Evaluación del número de ninfas cada 30 hojas y presencia de mielecilla (24/3/2014)

Tratamientos	Ninfas cada 30 hojas	Presencia de mielecilla
1.Testigo sin tratar	1.00 b ²	0.6 b ²
2.Cinco aplicaciones	0.0 a	0.0 a
3.Cuatro aplicaciones	0.0 a	0.0 a
4.Tres aplicaciones	0.0 a	0.0 a
5.Dos aplicaciones	0.0 a	0.0 a
6.Una aplicación	0.4 ab	0.0 a
Coeficiente de variación	32	21

¹Datos originales que fueron transformados por $\sqrt{x+1/2}$ para su análisis

² Las medias seguidas por igual letra no difieren significativamente al 10% por la prueba Duncan de rangos múltiples

Grado de enrojecimiento

Las evaluaciones de enrojecimiento de la temporada 2014 no arrojaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos no llegándose a niveles altos de enrojecimiento a fin de ciclo (2.8-3.4).

Detección de fitoplasmas en plantas

En 2014 se detectaron fitoplasmas en cinco muestras, cuatro en la primer fecha, 27/2 (dos del tratamiento 3, una del 4 y una del 1) y una en la última fecha de muestreo, 8/5 (tratamiento 4) (Figura 6).

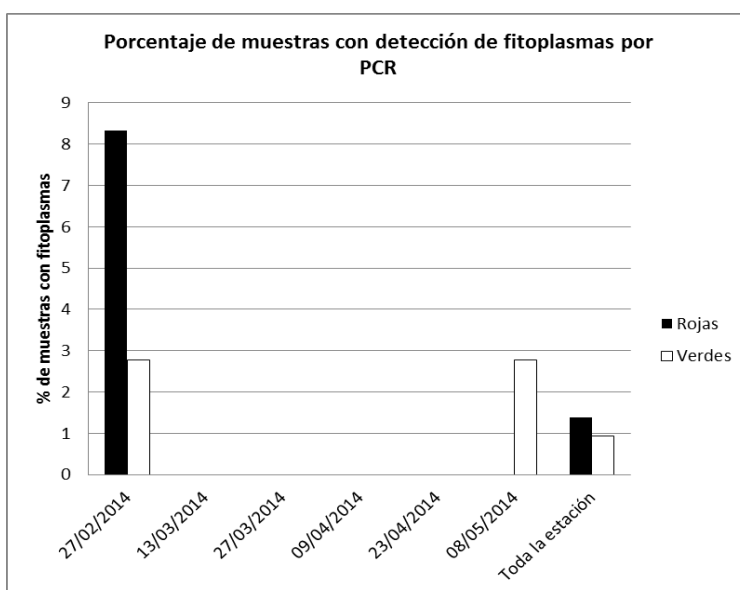


Figura 7. Detección de fitoplasmas en 2014, en porcentaje sobre un total de 36 muestras por fecha. Rojas = plantas con enrojecimiento, verdes= plantas sin enrojecimiento al momento de extraer la muestra.

La detección de fitoplasmas en 2014 fue muy reducida, registrándose principalmente en la primera fecha de muestreo previo al comienzo de los tratamientos evaluados y coincidió con las mayores capturas de psilas. Debido a su bajo número no se encontró asociación entre detección de fitoplasmas y coloración de follaje. Por lo tanto en esta temporada no es posible pensar que las coloraciones rojizas de follaje fueran efecto de la infección con fitoplasmas.

Detección de fitoplasmas en insectos

En 2014 se colectaron muy pocos insectos únicamente en 14/4 y 6/5/2014. En la primera fecha se analizaron cuatro grupos de tres adultos y cinco ninfas cada uno y en la segunda fecha cinco grupos de 6 adultos. En todos los grupos se detectaron fitoplasmas mediante PCR.

Efecto sobre la floración.

En setiembre 2014 el testigo sin tratar se diferenció del resto de los tratamientos presentando el mayor porcentaje de yemas muertas o brotadas sin corimbo floral y el menor porcentaje de yemas con cuatro o más flores por corimbo (Cuadro 10).

Cuadro 10. Estado de las inflorescencias (en porcentaje) en la floración 2014.

Tratamientos	YM + YBSF ¹	1-3 flores ²	4 o más flores ³
1. Testigo sin tratar	18,2 a ⁴	3.7	74.3 b
2. Cinco aplicaciones	11.9 ab	3.9	82.7 ab
3. Cuatro aplicaciones	8.8 b	3.7	88.2 a
4. Tres aplicaciones	10.5 ab	4.6	84.1 ab
5. Dos aplicaciones	12.1 ab	4.0	82.3 ab
6. Una aplicación	9.6 b	4.2	83.8 ab

¹ YM = yemas muertas, YBSF = yemas brotadas pero sin corimbo floral. ² 1-3 flores = yemas con una a tres flores por corimbo. ³ 4 o más flores = yemas con cuatro o más flores por corimbo.

⁴ Los tratamientos seguidos por igual letra no difieren significativamente según la prueba Duncan de rangos múltiples.

Bibliografía

- Duarte F, Bermúdez A, Mujica MV, Scatoni IB.** 2014. Manejo regional de lepidópteros plaga de frutales de hoj caduca de la zona sur del Uruguay. En: 13º Congreso Nacional de Horti-Fruticultura; 3-7-setiembre; 2014; Montevideo, Uruguay. p.123.
- Giunchedi L.** 2003. Malattie da virus, viroidi e fitoplasmi degli alberi da frutto. Edagricole. Bologna. 337 p.
- Lorenz K H, Schneider B, Ahrens U, Seemuller E.** 1995. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology*, 85: 771-776.
- Maeso D, Martínez A, Federici MT, Goncalvez L, Silvera M, Cabrera D, Núñez S, Walasek W, Giunchedi L.** 2012. El decaimiento del peral en Uruguay: Generalidades y trabajos experimentales de INIA Las Brujas. En: INIA. SAD N° 687, pp: 51-68.
- Martínez A.** 2008. Detección de fitoplasmas en plantas de peral y su relación con desórdenes del cultivo. [Trabajo Especial II]. Montevideo: Facultad de Ciencias, Universidad de la República. 116 p.
- Marzachi C, Alma A, D'Aquilio M, Minuto G, Boccardo G.** 1999. Detection and identification of phytoplasma infecting cultivated and wild plants in Liguria (Italian Riviera). *Journal of Plant Pathology*, 81: 127-136.
- Seemüller E.** 1989. Pear decline. En: Washington State University. Virus and viruslike diseases of pome fruits and simulating noninfectious disorders. SP0003. Cooperative Extension College of Agriculture and Home Economics. pp- 188-201.