



EL DECAIMIENTO DEL PERAL.

Aportes experimentales

Ing. Agr. (MSc) Diego C. Maeso

Programa Nacional de Producción Frutícola

En una entrega previa (ver Revista INIA N°37) se han descrito las principales características del “decaimiento”, una enfermedad un tanto diferente al resto de las que afectan al peral en Uruguay. Se mencionó que es provocada por un fitoplasma, ‘*Candidatus Phytoplasma pyri*’ (patógeno relacionado con las bacterias) transmitido por varias especies de psila (*Cacopsylla spp.*) y que la magnitud de sus daños depende mucho de la sensibilidad de la combinación variedad/portainjerto, siendo las combinaciones menos vigorosas las más sensibles.

En esta oportunidad se presenta un resumen de la información obtenida en casi 20 años de trabajos realizados por el Programa de Fruticultura de INIA a partir de

la detección de la enfermedad en el país en 1995. Los detalles de los experimentos y resultados pueden ser consultados en Maeso *et.al.* 2012 y Mujica *et.al.* 2014 (ver Bibliografía)

Los trabajos incluyeron tres etapas:

En la primera, se diagnosticó por primera vez la enfermedad en Uruguay, contando con la colaboración del Dr. Luciano Giunchedi de la Università degli Studi de Bologna realizándose un relevamiento preliminar. En la segunda etapa se ajustó el diagnóstico molecular del patógeno en plantas e insectos y se realizó el seguimiento de la infección y del desarrollo de síntomas entre

Cuadro 1 - Asociación entre la detección de fitoplasmas y algunas características de las plantas (relevamiento 1995).

Característica	Grupos analizados	Significancia (prueba χ^2)
Alta infestación de psila	INIA LB A	9%
	INIA LB B	
Color rojizo en follaje	Total de las muestras	10%
	Porta injerto <i>P. betulifolia</i>	8%
	Variedad William	10%
	Zona Melilla	2%
Caída prematura de hojas	William	1%
	Zona Melilla	6%

2005-2011, en un experimento en el que se evaluaron diferentes combinaciones de variedades, portainjertos e interinjertos.

Por último, en la tercera etapa, las actividades se enfocaron en el estudio de la enfermedad vinculada a su insecto vector.

RELEVAMIENTO PRELIMINAR

En el comienzo de INIA una de las áreas priorizadas por el Programa de Fructicultura fue la producción de material de propagación libre de enfermedades. Para el caso de la pera, la recomendación del Dr. Giunchedi fue examinar primero la existencia o no del decaimiento del peral, enfermedad de gran importancia en Europa y EEUU. Es así que en otoño de 1995 se enviaron al laboratorio de la Universidad de Bolonia, Italia, muestras

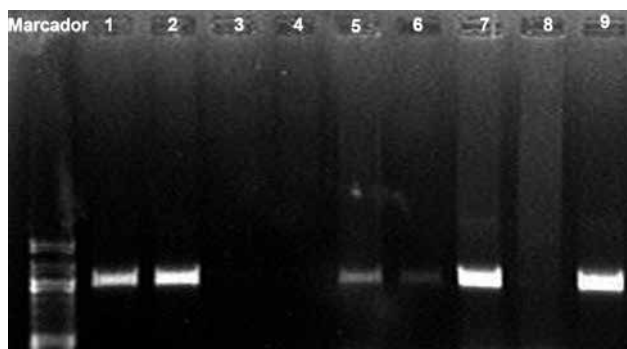


Figura 1 - Electroforesis en gel de agarosa 1.5% en TAE 0.5X de los productos de la amplificación por PCR. Las bandas observadas en las líneas 13 a 16 evidencian la presencia de fitoplasmas en las muestras.

de 70 plantas de peral tomadas en INIA Las Brujas y en predios comerciales en Melilla para su análisis por microscopía.

Mediante ese análisis se evidenció la presencia de fitoplasmas en el 50% de las plantas relevadas. En la ocasión, una proporción de las muestras fue analizada mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de reciente implementación en ese momento para este patógeno.

Cotejando con la información disponible se encontró asociación entre la detección de fitoplasmas con el grado de infestación con psila, la presencia de color rojizo en el follaje y la defoliación prematura de las plantas (Cuadro 1) todos ellos síntomas descritos en la bibliografía para el decaimiento del peral.

AJUSTE DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR

A partir de esta primera identificación se ajustó la detección del fitoplasma causante del decaimiento del peral mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en nuestras condiciones. Para dicho ajuste se compararon alternativas de extracción de ADN, momentos del ciclo y partes de la planta a muestrear (Martínez, 2008).

Mediante esta técnica se contó con una herramienta de diagnóstico rápido en el cual la presencia de una banda característica en un gel de electroforesis permite conocer si las plantas están infectadas. Con esto se posibilitó la realización de los estudios posteriores que se resumen a continuación.

INFLUENCIA DE LAS COMBINACIONES DE VARIEDADES/FILTRO/PORTAINJERTO EN EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

Contando con la detección molecular se realizó el seguimiento de esta enfermedad durante 2005-2011, en un experimento de 20 combinaciones de variedades, portainjertos y filtros existentes en INIA LB (Cuadro 2).

Se evaluó la intensidad de síntomas según una escala 0-5 siendo 5 la mayor intensidad (enrojecimiento y defoliación prematura) y la presencia de fitoplasmas (analizada por PCR en otoño).

En el Cuadro 3 se muestra la tendencia general global promediando todos los resultados de todas las evaluaciones del período.

Como se puede apreciar, las plantas autoradicadas e injertadas sobre OHxF 40 y OHxF 69 presentaron menor intensidad de síntomas frente a aquellas en que se utilizaron membrilleros como portainjerto. Estas alternativas, al ser vigorosas y no oponer restricciones al pasaje de savia en la planta, no eran sensibles a presentar síntomas derivados de problemas en la translocación de savia elaborada, como lo son los provocados por el decaimiento del peral.

Cuadro 2 - Variedades-portainjertos y filtros estudiadas durante 2005-2011.

Tratamientos	Combinación	Abreviación	Vigor de la combinación
1	William/Old Home/membrillo BA29	William/OH/BA29	Medio
2	William/Beurre Hardy/membrillo BA29	William/BH/BA29	Medio
3	William/ membrillo BA29	William/BA29	Medio
4	William/ Old Home/membrillo EMC	William/OH/EMC	Bajo
5	William/Beurre Hardy/membrillo EMC	William/BH/EMC	Bajo
6	William/membrillo EMC	William/EMC	Bajo
7	William/ Old Home/membrillo Adams	William/OH/AD	Bajo
8	William/ Beurre Hardy /membrillo Adams	William/BH/AD	Bajo
9	William/ membrillo Adams	William/AD	Bajo
10	Packham's/ membrillo BA29	Packham's/BA29	Medio
11	Packham's/ membrillo EMC	Packham's /EMC	Bajo
12	Packham's/ membrillo Adams	Packham's / AD	Bajo
13	Abate Fetel/ membrillo BA29	Abate Fetel/ BA29	Medio
14	Abate Fetel/ membrillo EMC	Abate Fetel/EMC	Bajo
15	Abate Fetel/ membrillo Adams	Abate Fetel/AD	Bajo
16	Abate Fetel - autoradicada	Abate Fetel	Alto
17	William/ Old Home x Farmingdale 40	William/OHF 40	Alto
18	William/ Old Home x Farmingdale 69	William/OHF 69	Alto
19	Abate Fetel/ Old Home x Farmingdale 40	Abate Fetel/OHF 40	Alto
20	Abate Fetel/ Old Home x Farmingdale 69	Abate Fetel/OHF 69	Alto

En cuanto a la detección de fitoplasmas, el porcentaje de plantas en las que se detectaron varió entre temporadas (Figura 2) no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre las combinaciones.

La diferencia en detección entre temporadas coincidió con diferencias en el grado de ataque de psila (a mayor ataque mayor porcentaje de detección).

No se encontró asociación entre la detección de fitoplasmas y las variedades-portainjertos-filtros evaluados. Sin embargo, existió una tendencia a una mayor detección de fitoplasmas en las plantas autoradicadas

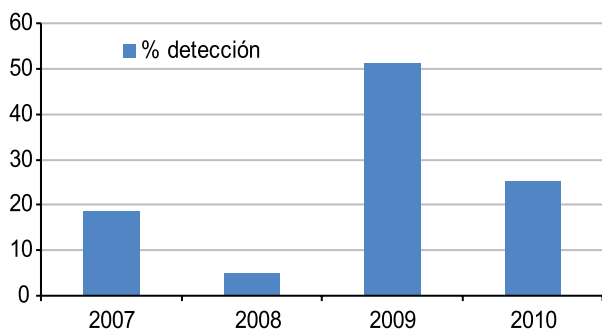


Figura 2 - Porcentaje de detección de fitoplasmas en ensayo de variedades/portainjertos de peral sobre un total de 80 muestras en el periodo 2007-2010.

e injertadas sobre OHxF 40 y OHxF 69 que, como se dijo, fueron también las que mostraron menos síntomas. Vale la pena recordar que para que se desarrolle esta enfermedad existen dos aspectos muy importantes:

1) la facilidad del portainjerto a propagar y mantener al fitoplasma todo el año (en el floema de sus raíces en invierno). Este es el caso de los perales autoradicados o injertados en perales o especies relacionadas (OHxF 40 y OHxF 69), siendo nula para los membrilleros.

2) la sensibilidad de la combinación a la aparición de decaimiento, siendo más sensibles al daño aquellas combinaciones menos vigorosas.

No se encontraron relaciones directas claras al estudiar si existía asociación entre la detección de fitoplasmas y la presencia de síntomas, discriminando entre las diferentes posibilidades (variedades, portainjertos, etc.). Eso se debe a que también pueden intervenir otros factores no relacionados a esta enfermedad; recordemos que son todos síntomas derivados de un anormal movimiento de savia elaborada hacia las raíces, por lo que la falta de afinidad entre individuos también afectó el resultado.

Sin embargo, en algunas temporadas se encontró asociación estadísticamente significativa entre la detección del patógeno y la presencia de epinastia y enrojecimiento sugiriendo una causalidad en el desarrollo de estos síntomas.

Cuadro 3 - Resumen de intensidad de síntomas atribuibles a decaimiento (promedio de todas las evaluaciones del período).

Combinación	Síntoma ¹	
	Enrojecimiento	Defoliación prematura
AF/OHF40	0.2	1.1
W/OHF40	0.3	1.0
W/OHF69	0.4	0.6
AF	0.5	0.3
AF/OHF69	0.7	0.4
PK/BA29	0.8	1.9
PK/EMC	0.9	1.9
PK/AD	0.9	2.3
W/OH/EMC	1.1	2.5
W/BH/EMC	1.1	1.8
W/AD	1.1	2.3
W/OH/AD	1.2	2.3
W/BH/BA29	1.2	1.7
W/EMC	1.3	2.2
W/BA29	1.4	1.7
W/BH/AD	1.4	1.9
W/OH/BA29	1.5	2.4
AF/BA29	2.2	1.9
AF/AD	2.7	2.2
AF/EMC	2.8	1.7

¹Según escala 0-5 (5= máxima intensidad de síntomas).

RELACIÓN CON EL INSECTO VECTOR

La última etapa de los estudios se enfocó sobre la detección del fitoplasma en el insecto vector. Se analizó su variación durante la temporada y el efecto del control químico de psila como plaga sobre el desarrollo de esta enfermedad.

A partir del 2009 se ajustó la metodología para detectar fitoplasmas en psila. Es así que en el período 2009-2011, se analizaron mediante la prueba PCR periódicamente grupos de 5 -10 insectos (según disponibilidad) colectados en varios montes de peral.

Resumiendo, se pudo observar que ya se detectan fitoplasmas en el insecto vector desde las primeras etapas de la temporada y esa proporción aumenta a medida que avanza la estación, demostrando la importancia del insecto en el ciclo de esta enfermedad. Esto también se observó en otras regiones, e indica que la transmisión ya se efectúa al comienzo de la estación, mucho antes de realizar los tratamientos para psila como plaga.

El aumento de la proporción de insectos infectados con el transcurso de la temporada es fruto del aumento de

la proporción de plantas infectadas y, por lo tanto, de lugares donde éste puede obtener al patógeno.

INFLUENCIA DEL CONTROL QUÍMICO EN LA DETECCIÓN Y EL DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

Considerando que, al evaluar diferentes combinaciones de variedades y portainjertos, no se encontró una asociación clara entre presencia de síntomas y detección de fitoplasmas debido a la influencia de otros factores, pero que sí existe una estrecha relación entre el nivel de infestación con el vector, se estudió el efecto del control de psila en el desarrollo de la enfermedad.

En la primera serie de experimentos se estudió la influencia de diferentes situaciones de control químico, que generaban varios grados de infestación del vector, sobre la presencia de enrojecimiento prematuro y la detección de fitoplasmas. En este caso, las plantas evaluadas correspondían a una combinación que no interfiere en la multiplicación del patógeno: William sobre membrillo afrancado.

En resumen, las situaciones comparadas correspondían a: plantas con “buen control”, plantas sin el insecto, plantas con infestación alta y plantas con infestación moderada.



Cuadro 4 - Detección de fitoplasmas y presencia de síntomas en diferentes alternativas de infestación con psila.

Tratamiento	Enrojecimiento	Porcentaje de detección
Buen control	con síntomas	100
	sin síntomas	20
Sin infestación sin control	con síntomas	40
	sin síntomas	0
Alta infestación sin control	con síntomas	40
	sin síntomas	20
Menor control	defoliadas y con síntomas	100

En este caso se encontró asociación significativa entre presencia de síntomas y la detección de fitoplasmas, siendo mayor en aquellos tratamientos con alta infestación con el vector (Cuadro 4). De acuerdo a esto en el caso de plantas afrancadas de William, cuando existen poblaciones altas del vector, la presencia de enrojecimiento está muy asociada a la infección con fitoplasmas.

En una segunda serie de experimentos (2013 y 2014) se estudió la influencia en el desarrollo de la enfermedad y la detección de fitoplasmas en diferentes alternativas de control químico de otoño. Las mismas se realizaron durante dos temporadas en un monte de la variedad Abate Fetel sobre membrillero Adams. Se realizaron entre una y cinco aplicaciones, desde comienzos de marzo a fines de abril, con spinetoram (Delegate WG, Agro Dow Science) a una dosis de 15 g/100 L con el agregado de 250 cc de aceite.

En ninguna de las dos temporadas se observaron diferencias entre los tratamientos en la presencia de síntomas y en la detección de fitoplasmas. En la temporada 2013 los niveles del insecto fueron altos y se detectó al patógeno tanto en plantas como en insecto ya antes de comenzar los tratamientos. Esto explicaría la falta de efecto del control otoñal en la prevención de la transmisión, debido a que ésta ya se había registrado en etapas tempranas. En la temporada 2014 el nivel de infestación por el insecto fue muy bajo, detectándose fitoplasmas solamente en muy pocas plantas. Estos resultados refuerzan lo observado en años anteriores, en que la detección de fitoplasmas es mayor cuando se registran niveles altos de infestación con psila, y lo descrito en la bibliografía respecto a que la transmisión de esta enfermedad se registra desde el comienzo de la temporada.

CONCLUSIONES

- Se confirmó la presencia en nuestro país de la enfermedad conocida como decaimiento del peral, provocada por fitoplasmas.
- Mediante la técnica de PCR se puede detectar al fitoplasma que la provoca, analizando el floema de la base de ramas de 1-2 años en otoño.

- La importancia de esta enfermedad depende de la combinación variedad/portainjerto utilizada.

- Su efecto se confunde con otros factores (por ejemplo afinidad) que provocan la misma sintomatología: enrojecimiento temprano del follaje.

- Esta enfermedad deberá ser considerada en la elección del portainjerto, fundamentalmente al utilizar combinaciones poco vigorosas, ya que su efecto agravaría los problemas de afinidad.

- El patógeno fue detectado en individuos de psila, su vector, durante todo el año, ya desde comienzos de estación, confirmando lo observado en otros países.

- La proporción de la infección con fitoplasmas está muy relacionada con el nivel de ataque de este insecto, siendo más alta en montes con alta infestación.

- El control químico otoñal de psila como plaga no es eficaz para prevenir la transmisión de decaimiento. En ese sentido, deberán plantearse medidas alternativas (selección de combinaciones poco sensibles, uso de plantas libres del patógeno, buen control previo del vector).

AGRADECIMIENTOS

En la generación de esta información participaron, además del autor: Danilo Cabrera, María Teresa Federici, Luciano Giunchedi, Lucía Goncalvez, Carolina Leoni, Anabel Martínez, Valentina Mujica, Saturnino Núñez, Mariana Silvera y Wilma Walasek.

BIBLIOGRAFÍA

Maeso, D., Martínez, A., Federici, M., Goncalvez, L., Silvera, M., Cabrera, D., Núñez, S., Walasek, W. y Giunchedi, L. 2012. El decaimiento del peral en Uruguay: Generalidades y trabajos experimentales de INIA Las Brujas. INIA Serie Actividades de Difusión 687. p 51-68.

Martínez, A. 2008. Detección de fitoplasmas en plantas de peral y su relación con desórdenes del cultivo. Trabajo Especial II. Facultad de Ciencias. 116 p.

Mujica, V., Silvera, M. Goncalvez, L., Leoni, C. y Maeso, D. 2014. Control químico de psila y su influencia sobre el decaimiento del peral y desórdenes asociados. INIA Serie Actividades de Difusión 739. p 51-68.