



■ PROBLEMA ABORDADO

Diversidad de fitoplasmas detectados en viñedos

Las descripciones de graves epidemias de amarillamiento de la vid en Italia se remontan a la década de 1990, cuando se registraron graves pérdidas debido principalmente a la presencia de flavesencia dorada, especialmente en las regiones del norte. En los años siguientes también se describió la presencia de “bois noir” en otras regiones y, de manera errática, de otros fitoplasmas. El impacto económico de la enfermedad del amarillamiento de la vid estuvo bajo control durante los últimos 20 años, hasta que, recientemente, comenzaron a resurgir brotes dispersos y epidemias localizadas. En el marco del proyecto TROPICSAFE se llevaron a cabo estudios en viñedos italianos seleccionados ubicados en las regiones de Veneto, Emilia-Romagna, Toscana, Marche y Abruzzo y se realizaron mediante la secuenciación del gen de ARN ribosómico 16S de fitoplasmas amplificados por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o PCR anidada. Las pruebas permitieron identificar la presencia de ‘*Candidatus Phytoplasma solani*’, ‘*Ca. P. fraxini*’, ‘*Ca. P. prunorum*’, ‘*Ca. P. asteris*’ y otras especies de ‘*Candidatus Phytoplasma*’ que se identificaron de forma errática. Además, en las regiones de Veneto y Emilia-Romagna se identificaron diversas cepas de fitoplasmas de flavesencia dorada mediante pruebas moleculares multigénicas seguidas de análisis de secuenciación y / o polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP). Como ocurre en todo el mundo, la principal variedad infectada fue Chardonnay, pero varias otras variedades populares como Sangiovese, Lambrusco, Barbera, Cabernet Sauvignon y Pinot también resultaron infectadas y mostraron síntomas típicos. Algunas variedades como Glera y Nebbiolo no mostraron síntomas ni tuvieron síntomas inespecíficos en presencia de las epidemias de fitoplasmas, ya que son tolerantes a la presencia de fitoplasmas.



- Los síntomas del amarillamiento de la vid incluyen amarilleces o enrojecimiento de las hojas; curvatura hacia abajo, a menudo con forma de triángulo, en las hojas; entrenudos acortados; muerte de puntas y brotes; falta de lignificación; flores abortivas; marchitamiento y deshidratación temprana de las bayas. En las imágenes, los cultivos sintomáticos infectados son, desde arriba a la izquierda: Sangiovese, Lambrusco y Chardonnay.



■ PRÁCTICA/INNOVACIÓN PROPUESTA POR TROPICSAFE

Diversidad de fitoplasmas detectados en los viñedos italianos en especies hospedadoras alternativas

Mientras que el amarillamiento de la vid es fácilmente reconocible por sus síntomas típicos, el reconocimiento de la presencia de sus fitoplasmas asociados en plantas huésped alternativas requiere un análisis molecular, porque en la mayoría de los casos estas especies no muestran síntomas. Además, la identificación de insectos vectores alternativos incluye su recolección y análisis molecular para verificar la presencia de fitoplasmas, junto con pruebas para demostrar su capacidad de transmisión. En Italia, los estudios de TROPICSAFE permitieron detectar e identificar varios fitoplasmas en plantas e insectos muestreados en viñedos infectados o en sus alrededores.

De las 300 muestras de plantas pertenecientes a varias especies analizadas, 16 especies resultaron ser huéspedes de fitoplasmas. *Parthenocissus quinquefolia* (Vitaceae), *Calystegia sepium* y *Convolvulus* spp. (Convolvulaceae), *Fraxinus excelsior* (Oleaceae), *Quercus* spp. (Fagaceae), *Robinia pseudoacacia* (Fabaceae), *Rosa canina* y *Rubus ulmifolius* (Rosaceae), *Conyza canadensis* y *Tagetes patula* (Asteraceae), y *Skimmia* sp. (Rutaceae) resultaron positivas a 'Ca. P. solani' (fitoplasmas del grupo 16SrXII-A). *Clematis vitalba* (Ranunculaceae), *Sorghum halepense* (Pooideae), *Hedera helix* (Araliaceae), *Rubus* sp. (Rosaceae) y *Morus* spp. (Moraceae) resultaron positivas a 'Ca. P. asteris' (fitoplasmas del grupo 16SrI). Además, se identificó un fitoplasma 16SrX en *S. halepense* y el fitoplasma 16SrV en *Clematis vitalba*. De todas las especies mencionadas solo *P. quinquefolia*, *T. patula* y *Skimmia* sp. mostraron síntomas de enrojecimiento de las hojas y virescencia de las flores que indicaban la presencia de fitoplasmas.

En Italia, se utilizaron trampas adhesivas amarillas o redes entomológicas para capturar insectos en los viñedos muestreados y sus alrededores. Las especies más abundantes fueron *Orientus ishidae*, *Scaphoideus titanus*, *Hyalesthes obsoletus* y *Hishimonus hamatus*. Otras especies de insectos recogidas e identificadas son: *Reptalus* spp., *Anaplotettix* spp., *Anaplotettix fuscovenosus*, *Aphrophora alni*, *Centrotus cornutus*, *Neotalitrus fenestratus*, *Philaenus spumarius* y *Jikradia olitoria*. Tres especies de cicadélidos (*O. ishidae*, *S. titanus* y *N. fenestratus*), el cíxido *H. obsoletus* y el *Aphrophoridae P. spumarius* dieron positivo en las pruebas de detección de fitoplasmas. *O. ishidae* fue la especie más abundante con el 48% de las muestras positivas (69 de 213 ejemplares) y el mayor número de individuos infectados. Por primera vez se detectaron los grupos y subgrupos de fitoplasmas 16SrI-B, 16SrVI, 16SrVII-A, 16SrX y 16SrX-B en insectos de viñedos italianos. Se identificaron otros fitoplasmas en *Reptalus* spp. (16SrII), *Anaplotettix* spp. (16SrII-D), *A. fuscovenosus* (16SrII, 16SrX-B), *A. alni* (16SrII), *C. cornutus* (16SrII) y *J. olitoria* (16SrXI). Todavía no se han realizado pruebas para verificar la capacidad de los insectos de transmitir los fitoplasmas detectados, que también servirán para determinar su relevancia en las diferentes zonas infectadas por el amarillamiento de la vid.

■ ¿CÓMO SE ESTÁ IMPLEMENTANDO?

Gestión de los huéspedes alternativos de los fitoplasmas del amarillamiento de la vid

La epidemiología del amarillamiento de la vid es compleja, y los métodos de gestión de la enfermedad incluyen la erradicación de las vides sintomáticas, el control de las plantas huésped y los insectos vectores. Las plantas hospedadoras alternativas desempeñan un papel importante como reservorios desde los que los insectos vectores pueden transmitir los fitoplasmas a las vides. Los insectos vectores del fitoplasma son principalmente cicadélidos, cíxidos y psílidos. La ventaja de su identificación en un agroecosistema concreto es que permite su eliminación selectiva y sostenible al reducir los costes de mano de obra y material infectado. La biología y la epidemiología de los fitoplasmas más frecuentemente detectados en la vid ('Ca. P. solani', 16SrXII-A y flavescencia dorada, 16SrV-C/-D) son ya ampliamente conocidas. Sin embargo, el cambio climático y la reciente introducción de especies alóctonas de



Este proyecto ha recibido financiación del programa de investigación e innovación de la Unión Europea H2020, bajo el acuerdo de concesión N° 727459

www.tropicsafe.eu

Esta ficha de innovación se ha producido como parte del proyecto TROPICSAFE. Aunque el autor ha trabajado con la mejor información disponible, ni el autor ni la UE serán en ningún caso responsables de cualquier pérdida, daño o perjuicio que se produzca directa o indirectamente en relación con el proyecto.



potenciales insectos vectores de fitoplasmas y de malas hierbas han aumentado el riesgo de propagación de nuevos fitoplasmas o de nuevas cepas. El seguimiento de TROPICSAFE ha mostrado un aumento del número de especies vegetales infectadas por fitoplasmas del grupo 16SrXII-A como posible fuente de infección en los viñedos y en muchos otros entornos agrícolas y naturales. TROPICSAFE también comprobó que otros cicadélidos y cíxidos estaban infectados con fitoplasmas asociados al amarillamiento de la vid. Aunque se ha confirmado la presencia de fitoplasmas, su mera presencia en un insecto no es prueba de la condición de vector, que debe verificarse además mediante el análisis de la transmisión a la vid en condiciones experimentales.



• Arriba desde la izquierda: plantas sintomáticas de *P. quinquefolia* y *T. patula* infectadas con 'Ca. *P. solani*' (16SrXII-A) en viñedos infectados por el amarillamiento en Italia. Abajo: un viñedo sintomático rodeado de malas hierbas y especies vegetales que albergan algunos de los fitoplasmas detectados en el monitoreo de TROPICSAFE.

■ ¿CÓMO ESTÁ FUNCIONANDO?

Plantas hospedadoras de fitoplasmas e insectos vectores: ¿cómo gestionarlas de forma sostenible?

En el marco del proyecto TROPICSAFE, las investigaciones sobre nuevas plantas hospedadoras alternativas de los fitoplasmas de la vid, junto con los posibles insectos vectores, revelaron una larga lista de especies diferentes en Italia. Las plantas recogidas en los viñedos y sus alrededores eran en su mayoría asintomáticas, por lo que representan un reservorio oculto para la propagación de la enfermedad. Por lo tanto, se sugiere que las especies que den positivo a fitoplasmas en las proximidades de los viñedos sean analizadas y posiblemente eliminadas para evitar una posible infección de las plantas de vid. Por lo tanto, es evidente que sólo un seguimiento constante permite detectar a tiempo los fitoplasmas o los nuevos fitoplasmas que podrían infectar los cultivos estudiados. La gestión adecuada está vinculada a la diversa ubicación geográfica y a las condiciones del agroecosistema, pero con los conocimientos epidemiológicos apropiados puede aplicarse como una herramienta sostenible para reducir las pérdidas económicas y la contaminación ambiental.

Una de las prácticas agrícolas que podrían adoptarse es el uso de materiales de vid libres de fitoplasma al plantar nuevos viñedos, como se ha demostrado en el proyecto TROPICSAFE para otros procariotas transmitidos por insectos, como las especies de '*Candidatus Liberibacter*' en los cítricos en Cuba. Las investigaciones paralelas llevadas a cabo por los socios chilenos en la vid en proyectos separados han demostrado la posibilidad de producir materiales libres de fitoplasmas. Recientemente se demostró un control sostenible de las plantas infectadas en los campos mediante el uso de agua activada por plasma (PAW) que por el momento es, sin embargo, un procedimiento laborioso y que requiere mucho tiempo, pero que produjo resultados alentadores favoreciendo una mayor producción de bayas en la vid y la reducción de los síntomas. El uso de plantas de vid libres de fitoplasmas evita la difusión de los patógenos en el medio ambiente y la adquisición de los mismos a partir de potenciales insectos vectores presentes en el medio ambiente o introducidos incidentalmente, reduciendo el riesgo



de brotes epidémicos de amarillamiento de la vid sin el uso de insecticidas específicos. El uso de insecticidas aunque sea específico para los insectos vectores no está eliminando el riesgo de transmisión del fitoplasma ya que tiene un umbral económico y problemas biológicos para llegar a todos los individuos y está reduciendo la biodiversidad, la resiliencia y la seguridad de los agroecosistemas del viñedo.



- Tratamientos con agua activada por plasma (PAW) para mejorar la salud de las plantas e inducir su resistencia reduciendo la presencia de patógenos. (A) Brotes de vinca micropropagados tratados con PAW por inmersión; (B) plantas de vid cv. Chardonnay tratadas con PAW por maceración radicular; (C) plantas de vinca invertida tratadas por inmersión (Laurita *et al.*, 2020).

PALABRAS CLAVE

Amarillamiento de la vid, fitoplasmas, sintomatología, especies huéspedes alternativas, producción de plantas libres de fitoplasma

MÁS INFORMACIÓN

Bertaccini A., Borgo M., Bertotto L., Bonetti A., Botti S., Sartori S., Pondrelli M., Murari E. 2001. Termoterapia e chemioterapia per eliminare i fitoplasmi da materiali di moltiplicazione della vite. *L'Informatore Agrario* 42, 137-144.

Laimer M., Bertaccini A. 2019. Phytoplasma elimination from perennial horticultural crops. In: *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria-II Transmission and Management of Phytoplasma Associated Diseases*. Eds. Bertaccini A., Weintraub P.G., Rao G.P., Mori N., 185-206. Springer, Singapore.

Laurita R., Contaldo N., Zambon Y., Bisag A., Canel A., Gherardi M., Laghi G., Bertaccini A., Colombo V. 2021. On the use of plasma activated water in viticulture: induction of resistance and agronomic performance in greenhouse and open field. *Plasma Processes and Polymers* 18, e2000206.

Zambon Y., Canel A., Bertaccini A., Contaldo N. 2018. Molecular diversity of phytoplasmas associated with grapevine yellows disease in North-Eastern Italy. *Phytopathology* 108(2), 206-214.

Several Authors. 2021. Giallumi della vite, situazione in alcuni areali italiani. *L'Informatore Agrario* 13, 48-54.

CRÉDITOS

Nicoletta Contaldo *Alma Mater Studiorum* – Universidad de Bolonia, Departamento de Ciencias Agrícolas y Alimentarias, Bolonia, Italia
nicoletta.contaldo2@unibo.it

Assunta Bertaccini *Alma Mater Studiorum* – Universidad de Bolonia, Departamento de Ciencias Agrícolas y Alimentarias, Bolonia, Italia
assunta.bertaccini@unibo.it

Septiembre, 2021