



■ PROBLEMA ABORDADO

La historia del amarillamiento letal del coco en Cuba

El amarillamiento letal de los cocoteros se encuentra entre las enfermedades fitoplasmáticas más graves (Eziashi y Omamor, 2010). En Cuba, el cocotero se utiliza como planta ornamental y existen algunas pequeñas plantaciones comerciales en Baracoa (provincia de Guantánamo), Niquero y Pílon (provincia de Granma) y algunos municipios de la región central (Cueto, 1986).

En informes anteriores los fitoplasmas cubanos asociados al amarillamiento letal fueron clasificados en el grupo 16SrIV (Llauger *et al.*, 2002). En la actualidad existe un Programa Nacional de Recuperación de la Industria del Coco en Cuba y en este marco era muy relevante verificar la identidad de los fitoplasmas asociados al amarillamiento letal para apoyar el desarrollo posterior de estrategias para monitorear y manejar más efectivamente la enfermedad en el país.



- Sintomatología observada en los cocoteros: hojas amarillas en posición horizontal e inflorescencias necrosadas.

■ RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN MÁS RECIENTES

El fitoplasma detectado en el cocotero

El amarillamiento letal del cocotero (LY) es actualmente la enfermedad más importante que afecta a la producción de coco en todo el mundo. Se tomaron muestras de cocoteros sintomáticos y asintomáticos en áreas seleccionadas para verificar la identidad de los fitoplasmas asociados al LY en Cuba. En las muestras de los cocoteros sintomáticos se detectaron diversos grupos ribosómicos de fitoplasmas como 16SrXII, 16SrVII y 16SrI. En muchos otros cocoteros se identificaron fitoplasmas del subgrupo 16SrIV-A, utilizando cebadores diseñados para el gen *groEL*, la única planta positiva de Pílon resultó infectada por una cepa diferente a las demás encontradas en Cuba, pero idéntica a las cepas 16SrIV-A detectadas en los cocoteros infectados con LY de Jamaica. Este es el primer registro de ocurrencia de los grupos 16SrI, -VII y -XII en cocoteros de Cuba.



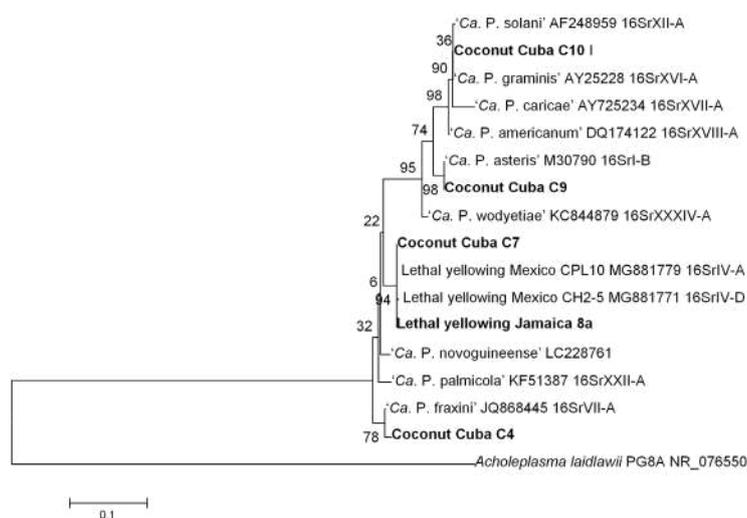
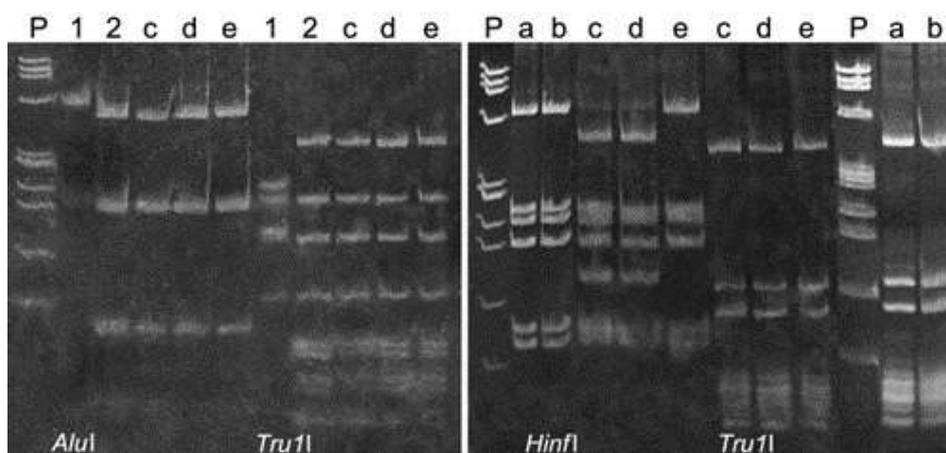
- Lugares de Cuba donde se tomaron muestras de las plantas de coco.



■ ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE TROPICSAFE

Identificación molecular de los fitoplasmas de los cocoteros

Se recogieron muestras de cocoteros sintomáticos y asintomáticos en los focos más activos de la enfermedad, localizados principalmente en el norte de la región occidental y central del país. También se incluyó una muestra del sureste del país. La extracción de ADN se realizó a partir de 1g de serrín obtenido taladrando el tronco, utilizando métodos basados en CTAB y/o fenol-cloroformo. Se utilizaron controles positivos de cocoteros infectados con amarillamiento letal (16SrIV-A) de México y Jamaica y 16SrIV-D de México. Se realizó la amplificación por PCR del gen 16S rRNA con cebadores universales, seguida de PCR anidada con cebadores generales y específicos del grupo 16SrIV y RFLP y/o secuenciación. Además, las muestras positivas a 16SrIV también se amplificaron en el gen *groEL* con los cebadores *groEL*1/R1 en directo y *groEL*2/R2 (Myrie *et al.*, 2011) en la PCR anidada. Para la identificación del fitoplasma se realizaron análisis RFLP con *Tru*11 y *Alu*1 en los amplicones apropiados del gen 16S rRNA. Se empleó la enzima *Hinf*1 para digerir los amplicones de *groEL*2/R2. Ocho de las 16 muestras fueron positivas para fitoplasmas y la secuenciación confirmó la identidad de los fitoplasmas detectados, tal como se verificó con los análisis RFLP.



- Línea superior: gel de poliacrilamida visualizado bajo luz ultravioleta tras la tinción con bromuro de etidio de los perfiles RFLP de los amplicones obtenidos de las muestras de coco con las enzimas indicadas en la parte inferior. Izquierda, cebadores 16S503f/LY16Sr; derecha, cebadores *groEL*2/R2. Muestras de Cuba: c, C7, d, C13 y e, C168; muestras de México 1, 16SrIV-D y 2, 16SrIV-A; muestras de Jamaica a y b; P, marcador phiX174 ADN digerido con *Ha*ellI. Línea inferior: árbol filogenético con el método Neighbour-Joining realizado en MEGA6 mostrando los diferentes fitoplasmas detectados en palmas de Cuba y Jamaica en negrita.



■ DATOS CIENTÍFICOS Y PRIMEROS RESULTADOS

Diversidad molecular de los fitoplasmas detectados en los cocoteros

Estos resultados indican la presencia de diferentes grupos ribosomales de fitoplasmas en las palmeras. Las cepas 16SrIV detectadas se engloban en el subgrupo -A, mientras que el RFLP en el gen *groEL*, que no amplifica los fitoplasmas englobados en el subgrupo 16SrIV-D, mostró que los fitoplasmas de una de las muestras de Cuba son idénticos a las cepas de Jamaica. De acuerdo con estudios anteriores, el grupo de fitoplasmas predominante detectado fue el 16SrIV. Sin embargo, se identificaron cepas relacionadas con los grupos 16SrI, -VII y -XII mediante análisis RFLP en el gen ribosómico 16S y también se detectaron agrupaciones con fitoplasmas incluidos en estos grupos. Estos resultados indicaron por primera vez la ocurrencia de estos grupos de fitoplasmas en cocoteros afectados con amarillamiento letal en Cuba, algunos de ellos ya habían sido reportados en cocoteros de otras áreas infectadas (Contaldo *et al.*, 2019).

Muestra	Localización / Provincia	Grupo ribosomal de fitoplasma
C4	Moronta, Camagüey	16SrVII
C6	La Gloria, Camagüey	16SrIV, 16SrXII
C7	Sola, Camagüey	16SrIV
C8		16SrIV
C9	St. Lucia, Camagüey	16SrI
C10		16SrXII
C13	Mayabeque	16SrIV
C168	Pilón Granma	16SrIV

- Resultados del monitoreo para la detección de 'Ca. Phytoplasma'.

PALABRAS CLAVE

Cocotero, enfermedad del amarillamiento letal, fitoplasmas, identificación molecular

MÁS INFORMACIÓN

Contaldo N., D'Amico G., Paltrinieri S., Diallo H.A., Bertaccini A., Arocha Rosete Y. 2019. Molecular and biological characterization of phytoplasmas from coconut palms affected by the lethal yellowing disease in Africa. *Microbiological Research* 223-225, 51-57.

Cueto J.R. 1986. Apuntes para una historia del cultivo del cocotero en Cuba I. Desde 1942 hasta 1959. *Especial referencia a la región de Baracoa. Monografiado*, 15.

Eziashi E., Omamor I. 2010. Lethal yellowing disease of the coconut palms (*Cocos nucifera* L.): an overview of the crises. *African Journal of Biotechnology* 9, 9122-9127.

Llauger R., Becker D., Cueto J., Peralta E., González V., Rodríguez M., Rohde W. 2002. Detection and molecular characterization of phytoplasma associated with lethal yellowing disease of coconut palms in Cuba. *Journal of Phytopathology* 150, 390-395.

Myrie W., Oropeza C., Sàenz L., Harrison N., Roca M.M., Córdova I., Ku S. Douglas L. 2011. Reliable improved molecular detection of coconut lethal yellowing phytoplasma and reduction of associated disease through field management strategies. *Bulletin of Insectology* 64(Supplement), S203-S204.

CRÉDITOS

Camilo Paredes-Tomas Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, La Habana, Cuba fitopatologia1@iift.cu

Carlos Oropeza Salin Centro De Investigación Científica de Yucatán, Mexico cos@cicy.mx

Maria Narvaez Centro De Investigación Científica de Yucatán, Mexico maryn@cicy.mx

Wayne Myrie Consejo de Industrias del Coco, Kingston, Jamaica waynemyrie@hotmail.com

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

Martiza Luis-Pantoja Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, La Habana, Cuba maritzaluispantoja@gmail.com

Octubre, 2021



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.