

ANÁLISIS EPIDEMIOLÓGICO DE LA MANCHA DE SOL DE AGUACATE

Avocado Sun Blotch Viroid (ASBVd).

1. Generalidades (Notificaciones de primeros reportes)

La mancha de sol del aguacate fue descrita por primera vez en California en 1928 como un desorden fisiológico. En 1940 los investigadores demostraron que la enfermedad se transmitía mediante injerto y por varios años se pensó que era causada por un virus. En los 70's se determinó que la mancha de sol del aguacate es causada por un viroide. Esta es la única enfermedad viroide que se conoce en aguacate (UC IPG, 2001).

2. Estatus fitosanitario en México y regulación fitosanitaria

De la Torre y colaboradores (2009) realizaron el primer reporte del viroide de la mancha de sol del aguacate en huertos comerciales de aguacate en el municipio de Tingambato Michoacán, México, mediante pruebas con protocolos de transcripción inversa (RT)-PCR, utilizando un par de primers para amplificar específicamente la secuencia completa del genoma de ASBVd.

3. Biología y ecología

3.1 Clasificación taxonómica

Grupo: Viroide

Familia: Avsunviroidae

Género: Avsunviroid

Especie: Avocado sunblotch viroid

Acrónimo: ASBVd

(CABI 2007; Dale *et al.*, 1982)

3.2 Morfología

La enfermedad de la mancha de sol del aguacate fue identificada como un viroide, se inició por la caracterización de un RNA inusual asociado con la enfermedad. La transmisión mecánica de la mancha de sol del aguacate mediante la rozadura de plántulas sanas de aguacate con navajas humedecidas en extractos de árboles infectados, así como la fruta sintomática sugirió que un viroide podría ser la causa de la enfermedad (CABI, 2007)

El tipo de aislamiento de ASBVd reportado por Symons (1981) es una cadena-simple covalente cerrada, moléculas de ARN circular de 247 nucleótidos con un alto grado (67%) de vinculación de las bases anti paralelas con el 34% G:C, 52% A:U y el 14% G:U. El genoma A:U de ASBVd es único entre los viroides exclusivos GC. El RNA no está asociado con ninguna proteína de la cubierta y por lo tanto no pueden ser recuperados en paquetes-*in vitro* como cualquier estructura geométrica regular (CABI, 2007).

La forma circular de ASBVd puede ser trozada en vivo, como resultado de los procedimientos de extracción para producir formas lineales que son detectadas por la electroforesis del gel poliacrilamida (PAGE), así como la microscopía electrónica. Se puede asumir a partir de la información de otros viroides, que tanto las formas circulares y lineales son biológicamente activas (CABI, 2007).

Se demostró la actividad biológica del agente causal de la mancha de sol del aguacate mediante la inoculación del injerto en trozos de papel filtro humedecido con un extracto purificado de ASBVd que contiene moléculas circulares del viroide (CABI, 2007).

3.3 Transmisión

El principal método de infección es la transmisión por injerto durante la propagación, o tejido implantado y la introducción de plántulas infectadas con ASBVd surgidas de porta injertos infectados. Varios brotes con mancha de sol ocurren, cuando las plántulas utilizadas como porta injertos, son derivadas de árboles asintomáticos, en los cuales la transmisión por semilla es muy alta (95%) (Hadidi *et al.*, 2003).

La transmisión mecánica es posible mediante la inoculación por cortes y/o frotado de hoja con extracto de tejido infectado, aunque menos eficiente que la transmisión por injerto (Hadidi *et al.*, 2003).

En estudios realizados por [Desjardins y colaboradores \(1979\)](#) en transmisiones experimentales de polen de árboles infectados con mancha de sol por un vector biológico, la abeja *Apis mellifera*, registraron 1 al 4% de transmisión.

4. Síntomas

4.1 Síntomas primarios

En tallos verdes: El síntoma más frecuente es una o pocas franjas hundidas longitudinales color amarillo-claro. Estas franjas son más prominentes en áreas marcadas del tallo por numerosos brotes pequeños que son las partes de crecimiento temprano. En estas áreas la franja clara se amplía para rodear completamente el tallo (Figura 1). La parte clara se extiende hacia arriba y se reduce a la típica línea clara. La línea clorótica usualmente no continúa hasta el final del desarrollo. Cuando las hojas se originan en áreas con coloración clara, los peciolo son más claros de lo normal y este color claro se puede extender hasta las venas. En algunos tallos las franjas se pueden partir en manchas claras irregulares (Horne *et al* 1941).

Figura 1 Infección en plántulas de aguacate que muestra un segmento clorótico en el tallo. Créditos: Judy A. Szychowski



En frutos verdes: Las franjas son similares a las presentadas en el tallo. Son más pronunciadas en el final del tallo hasta la mitad y el hundimiento es mayor que incrementa la deformación de los frutos (Figura 2). En el centro y por debajo de las franjas se presentan de manera general amplias manchas. Alrededor de los frutos pequeños las franjas pueden tomar la forma de áreas ampliamente hundidas (Figura 3). Cuando los frutos de las variedades oscuras alcanzan el color, las franjas de la mancha de

sol son más claras que el color del fondo y se muestran notablemente como un rojo o púrpura (Horne *et al.*, 1941).

Bajo la superficie de la franja, se presenta otra franja clara en el mesocarpio que aparente mente es más blanda que otras partes del fruto. El porcentaje de frutos infectados en arboles con mancha de sol es variable. En arboles pequeños con poca fruta se observan casos donde todos los frutos presentan franjas, pero esto es muy raro. (Horne *et al* 1941).

Figura 2 Lesiones cloróticas superficiales en frutos de aguacate ocasionados por la mancha de sol. Créditos: Judy A. Szychowski

Figura 3 Fruto de aguacate que presenta franjas cloróticas hundidas. Créditos: David Rosen.



En hojas: En algunas variedades (Puebla, Caliente y algunas plántulas) se presentan áreas con franjas muy variables en algunas hojas. Donde el área anormal es larga, la parte clorótica se desarrolla menos que la parte verde y la hoja se deforma (Figuras. 3 y 4). En otros casos la parte anormal de la hoja no presenta clorosis, pero si un color verde grisáceo y es menor el desarrollo que el tejido verde normal. Las partes normales se arrugan y deforman (Fig. 3 y 4). En otros casos se encuentra manchas y moteados en las hojas (Horne *et al* 1941).

Figura 3 . Hojas de aguacate con que presentan un aclaramiento muy marcado y distorsión ocasionadas por la mancha solar del aguacate. Créditos: 1J. A. Dodds, 1D Mathews, 2M. L. Arpaia and 3G. W. Witney.

Figura 4 Síntomas de aclaramiento de la mancha solar, comúnmente asociado a las venas medias y tejido vascular Créditos: Judy A. Szychowski



Síntomas secundarios en partes viejas de los arboles

Corteza áspera: Los tejidos de la superficie se secan, se agrietan y oscurecen en una edad más temprana que las superficies de los árboles normales (Horne *et al* 1941)

5. Detección y diagnóstico

La detección más fácil para un diagnóstico práctico de la mancha de sol en el campo, es la aparición de los síntomas característicos en frutos. Adicionalmente un árbol aparentemente normal muestra una marcada reducción en el rendimiento, este se puede considerar como un candidato a portar de manera asintomática el ASBVd. En ausencia de la producción de frutos, reduce el crecimiento vegetativo y el ranurado del tallo también se observa como una expresión de la enfermedad (Hadidi *et al.*, 2003).

La identificación del RNA de ASBVd mediante la electroforesis del gel poliacrilamida (PAGE) lleva a la aplicación de la electroforesis en gel como una herramienta de indexación para la detección de la mancha de sol (CABI, 2007).

En estudios realizados por Rosner y colaboradores (2004) donde detectaron la mancha de sol del aguacate, mediante un punto de auto-hibridación con un etiquetado [³²P] ASBV-RNA. Este procedimiento de hibridación resulta ser 16-64 veces más sensible en diagnosticar ASBVd comparándolo con el análisis de gel poliacrilamida (PAGE)

En la hibridación molecular se cuenta con una variedad de protocolos para la utilización de los radioactivos y recientemente se emplean sondas no radioactivas que son utilizadas efectivamente en la detección de ASBVd en extractos de ácido nucleico (CABI, 2007).

La hibridación empleando sondas de RNA quimioluminiscentes fueron introducidos para una indexación de rutina. Este procedimiento tiene la ventaja de que las pruebas en tallos en muestras de campo se derivan sin la necesidad de utilizar los procedimientos de extracción. A pesar de que la hibridación es generalmente más aceptada por ser más sensible que la PAGE en la detección de la mancha de sol, sin embargo se conoce que algunas plantas infectadas no son detectadas (CABI, 2007).

Los protocolos de rutina para la detección de ASBVd mediante la reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa (RT-PCR) han sido desarrollados. La secuencia de los nucleótidos 247-251 de una serie de variantes de aislados de ASBVd de diferentes zonas productoras de aguacate confirma una secuencia de la cual fueron construidos un rango de primers pares tándem. Los más favorecidos se encuentran en el dominio central conservado de la molécula, situada cerca de los nucleótidos 40-80 y 160-200 (CABI, 2007).

La detección directa del ASBVd en el cloroplasto de hojas de aguacate y específicamente en la membrana del tilacoide fueron realizados mediante hibridación *in vitro* utilizando sondas de RNA complementarias al RNA del viroide la localización de los intermediarios en la replicación de ASBVd en el cloroplasto, sugiere un sitio de síntesis *in vivo* (CABI, 2007).

6. Hospederos

El principal hospedero es el aguacate (*Persea americana*). La transmisión de ASBVd es restringido a especies de Lauraceae bajo condiciones experimentales mediante injertos. ASBVd ha sido transmitido satisfactoriamente a *Persea schiedeana*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum camphora* y *Ocotea bullata*, pero no a *C. libertiana*, *P. indica*. Las plantas se ven afectadas en el estado de floración, fructificación, post cosecha, plántula y desarrollo vegetativo. Las partes de las plantas que son afectadas son el fruto, puntos de crecimiento, inflorescencias, hojas, tallo y la planta entera (CABI, 2007; Allen 2004.)

7. Mecanismos de dispersión

La transmisión del viroide ocurre con mayor frecuencia mediante la utilización de injertos o plántulas porta injertos infectados. Otro método de transmisión menos común son a través de heridas causadas por herramientas de corte infectadas, injertos de raíz y por polen de arboles infectados que en el ovulo floral de una planta no infectada, resulta en la infección de la semilla. No existe evidencia de la transmisión por insectos (UC PMG, 2001).

8. Prevalencia y distribución geográfica de la enfermedad

Fue reportado por primera vez en California y posteriormente en Florida. La mancha de sol ha sido detectada en países de América Central, Costa Rica y Guatemala, así como Sudamérica incluyendo Perú y Venezuela. Se han realizado reportes de áreas productoras de aguacate adicionales, a través del mundo. Esto incluye África: Sudáfrica; Asia: Israel; Europa: España; Oceanía: Australia (Hadidi *et al.*, 2003).

Distribución Mundial de la Mancha de sol del Aguacate (ASBVd) Créditos: CABI, 2007



9. Potencial económico, impacto ambiental e implicaciones comerciales

La mancha de sol es una enfermedad que está presente en diversas variedades de aguacate como 'taylor', 'booth- 7', 'lyon', 'caliente', 'collinson', 'lula', 'araira', 'fuerte', etc. Arboles afectados por este viroide producen menos y sus frutos son de escaso valor comercial; debido a que la enfermedad se manifiesta sobre hojas y frutos, le resta vigor a la planta y disminuye la calidad a los frutos (Rondon y Figueroa 1970).

No se ha realizado una evaluación comprensiva del impacto económico del ASBVd en la producción de aguacate. Sin embargo se ha observado que los arboles infectados son menos productivos (Hadidi *et al.*, 2003). Se estimó un 30% en la reducción del rendimiento en cultivos de la variedad "Fuerte" infectados con la mancha de sol (da Graca *et al.*, 1983). Adicionalmente, más de la mitad de los frutos disminuyeron en sus estándares de calidad. Otros cultivares como el "Edranol" son menos afectados, con una reducción en el rendimiento de alrededor del 18% (da Graca *et al.*, 1985). En casos específicos, donde los arboles actúan como portadores asintomáticos de ASBVd puede ocurrir una dramática reducción del rendimiento (95%) como en las variedades "Caliente" y "Reed" (Desjardins 1987).

México es de los principales países productores de aguacate a nivel mundial que contribuye con el 35-40% del total de la producción (Hadidi *et al.*, 2003). Tiene 28 estados productores de aguacate, los cuales suman una superficie sembrada de 122, 348 hectáreas de las cuales se cosechan 112, 478 hectáreas con una producción de 1, 162, 428 hectáreas cuyo valor de producción supera los 12 000 millones de pesos (SIAP, 2008).

Cuadro 1. Principales estados productores de aguacate en México

Estado	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	Valor Producción (Miles de Pesos)
MICHOACAN	103,628.60	95,563.85	1,024,582.25	10.72	11,439,175.51
MORELOS	3,133.00	3,133.00	25,372.00	8.1	258,445.60
NAYARIT	2,702.51	2,699.51	26,726.67	9.9	141,782.66
JALISCO	2,228.88	1,230.13	11,177.57	9.09	125,086.22
GUERRERO	2,030.00	1,830.00	11,855.10	6.48	76,860.12
MEXICO	1,993.50	1,915.50	21,351.75	11.15	193,617.93

Al ser México uno de los principales productores de aguacate en el mundo, y por su cercanía con Estados Unidos, se le considera una enfermedad de gran importancia.

10. Estrategias para la vigilancia, alerta, monitoreo y detección

10.1 Monitoreo

Inspeccionar en lugares con condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad como huertos que realicen prácticas culturales inadecuadas y donde los arboles presentan heridas mecánicas. Además de buscar síntomas característicos de la enfermedad. En los casos donde un árbol se encuentra enfermo, se deben de examinar todas las partes posibles a través de recorridos periódicos (UC UPGM, 2007).

Se deben de registrar las locaciones que presenten arboles enfermos, ubicándolos en un mapa, o tenerlos registrados mediante un sistema de geo posicionamiento global (GPS) (UC UPGM, 2007).

La principal estrategia de vigilancia de la enfermedad, es mediante recorridos mensuales, en zonas productoras del cultivo de Aguacate, para buscar síntomas sospechosos a los ocasionados por la mancha de sol auxiliándose de una guía de síntomas donde se muestran los daños característicos ocasionados por el viroide de la mancha de sol. En los casos donde se presenten síntomas similares ocasionados por el viroide, se procederá a la toma de muestra de acuerdo a lo mencionado en el protocolo para la toma de muestra de la mancha de sol del aguacate y dichas muestras serán enviadas al Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF) para su análisis. Toda vez que se confirme la presencia del viroide se realizara una evaluación de la enfermedad donde de acuerdo a lo observado se asignara un porcentaje de incidencia, el cual es la relación entre el número de plantas u órganos vegetales infectados y el número total de plantas u órganos inspeccionados, y se expresa mediante la siguiente fórmula:

$PI = \frac{N^{\circ} \text{ de Unidades Infectadas} \times 100}{N^{\circ} \text{ total de unidades inspeccionadas (hojas y frutos)}}$

De esta manera se podrá detectar de manera oportuna la presencia del viroide de la mancha de sol y efectuar las acciones para el manejo, confinamiento y erradicación de la enfermedad.

11. Control

11.1 Material vegetal libre de la enfermedad

La principal medida de control para esta enfermedad es mediante la utilización de arboles certificados, lo que implica la cuidadosa selección de injertos y semillas libres de la enfermedad (UC UPGM, 2001).

11.2 Eliminación de plantas enfermas

Deben ser retirados del huerto, los arboles que presenten síntomas y los tocones restantes deben ser eliminados. Se puede realizar la indexación en los huertos donde se sospecha la enfermedad para identificar los arboles positivos (UC UPGM, 2001).

11.3 Desinfección de herramientas

Las herramientas de poda y maquinas de cortar en la cosecha, deben ser esterilizados entre los arboles (UC UPGM, 2001).

El riesgo en la dispersión del viroide se incrementa en huertos donde se realizan podas en arboles adultos para reducir el tamaño y estimular o mantener la producción de fruta.

Existen indicios de que la poda severa en arboles asintomáticos que se encuentran infectados, movilizan al viroide hacia nuevas zonas de desarrollo. Esto resulta en que los arboles previamente asintomáticos, comienzan a producir síntomas. Cuando se podan los arboles, es importante que las herramientas se desinfecten antes de pasar de un lado a otro (UC UPGM, 2001).

La inactivación química del ASBVd en la poda es altamente eficiente con la inmersión en soluciones de hipoclorito de sodio al 20%, 2% formaldehído + 2% de hidróxido de sodio o 6% de peróxido de sodio (Desjardins *et al.*, 1987 citado por Hadidi *et al.*, 2003). Adicionalmente se ha reportado la inactivación en tejido infectado, al exponerlo a 56°C durante 15 minutos (da Graca y Vuuren 1980^a citado por Hadidi *et al.*, 2003.)

12. Recomendaciones

- Capacitación al personal de los Organismos Auxiliares de Sanidad Vegetal sobre la identificación de la enfermedad en campo, mediante la sintomatología y a través de las diversas técnicas moleculares existentes.
- Debido a que esta enfermedad se transmite mediante injertos, es necesario emplear material vegetal certificado.
- Tener monitoreada la dispersión de la enfermedad en California Estados Unidos y en México, principalmente en Michoacán, considerando el antecedente que se tiene, sobre los reportes positivos de la mancha de sol del aguacate (ASBv) en el municipio de Tingambato.
- A pesar de que la transmisión de la enfermedad mediante herramientas de poda no es el principal método de dispersión de la enfermedad, lo es para otro tipo de virus, por lo tanto es necesario, desinfectar las herramientas de poda, mediante la inmersión en soluciones como el hipoclorito de sodio.
- Establecer una ruta de vigilancia, en las principales zonas productoras de aguacate en México, para la detección oportuna de la enfermedad, en caso de que se presente.
- Ante la sospecha de la presencia del viroide en base a los síntomas que presenta el cultivo. La Dirección General de Sanidad Vegetal a través del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, ha establecido la comunicación pública mediante el servicio telefónico **01 800 987 987 9** para la atención personalizada.

13. Literatura

Allen, R. n. 2004. avocado diseases. agfact h6.ab.5, first edition 1985

Cabi. 2007. crop protection compendium. global module 7nd. edition. cab internacional. unk.

Da graca, jv & Dan vuuren, sp 1977. effects of avocado sunblotch disease on the mass, size and oil content of the fruit. *citrus & subtrop. fruit j.* no. 526: 10 – 11.

Da graca, jv, Mason, te & Antel, hj 1983. effect of avocado sunblotch disease on fruit yield. *s. afr. avocado growers' assoc. yrbk.* 6: 86 – 87

Da graca, j. v. 1985. sunblotch-associated reduction in fruit yield in both symptomatic and symptomless carrier trees. *south african avocado growers' association yearbook* 1985. 8:59-60

Dale, j.l., symons, r.h. & allen, r.n. 1982. avocado sunblotch viroid. *cmi/aab. descriptions of plant viruses*, no. 254.

De La Torre-A. R., Téliz-Ortiz, D., Pallás, V., y Sánchez-Navarro, J. 2009. First Report of *Avocado sunblotch viroid* in Avocado from Michoacán, México. *Plant disease*. February 2009, Volume 93, Number 2 Page 202 DOI: 10.1094/PDIS-93-2-0202B

Desjardins, p.r., Drake, r.j., Atkins, e.l. and Bergh, b.o., 1979. pollen transmission of avocado sunblotch virus experimentally demonstrated. *california agriculture* 33: 14-15

Hadidi. A., Flores. R., Randles. J., Semancik. J. 2003. viroids properties, detection, diseases and their control. *csiro publishing*

Rondon. a, y Figueroa, m. 1970. mancha de sol (sun blotch) de los aguacates (*persea americana*) en venezuela. en la vii reunión latinoamericana de fitotecnia. bogotá, 1970. centro nacional de investigaciones agropecuarias, maracay, venezuela. *agronomía tropical*. 26(5): 463-466. 1976

Rosner. A., Spiegel. A., Alper. M., bar-joseph. m., 2004. detection of avocado sunblotch viroid (asbv) by dot-spot self-hybridization with a [³²p]-labelled asbv-rna. [plant molecular biology](#). editorial springer netherlands.

SIAP. 2008. anuarios estadísticos de la producción agrícola en México. secretaria de agricultura, ganadera, desarrollo rural, pesca y alimentación. versión electrónica.

Symons rh, 1981. avocado sunblotch viroid: primary sequence and proposed secondary structure. *nucleic acids research*, 9:6527.

UC PMG (university of california pest management guidelines). 2001. avocado sunblotch pathogen: *avocado sunblotch viroid* (asbv).

UC PMG (university of california pest management guidelines). 2008. avocado sunblotch pathogen: *avocado sunblotch viroid* (asbv). university of california. (en línea: <http://www.ipm.ucdavis.edu/pmg/r8101011.html> citado el: 4 de enero de 2010)

W. t. Horne, e. R. Parker, and M. B. rounds, "the nature of sun-blotch and its practical control," *california avocado society yearbook*, 1941, p. 36.