

LIBRO DE RESÚMENES / ABSTRACT BOOK

V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE FRUTICULTURA TROPICAL Y SUBTROPICAL / IX SIMPOSIO INTERNACIONAL DE PIÑA “FRUTICULTURA 2017”

“Por una fruticultura competitiva y sostenible”

V INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON TROPICAL AND SUBTROPICAL FRUIT GROWING / IX INTERNATIONAL PINEAPPLE SYMPOSIUM "FRUTICULTURA 2017"

“For a competitive and sustainable fruit growing”

**HOTEL NACIONAL DE CUBA
15 AL 19 DE OCTUBRE DE 2017**

EL CONTENIDO DE LOS RESÚMENES ES RESPONSABILIDAD DE LOS AUTORES. / AUTHORS ARE RESPONSABLE OF THE CONTENT OF THE ABSTRACT.

CONFERENCIAS MAGISTRALES

MAGISTRAL LECTURES

Sin embargo, se detectaron otros grupos ribosómicos /de especies de '*Candidatus Phytoplasma*' en esta y otras especies (16rI, 16SrII, 16SrV, 16SrIX y 16SrXII). Los recientes progresos en la identificación y caracterización molecular de fitoplasmas junto con la implementación de su crecimiento en medios artificiales ayudarán a diseñar estrategias de manejo, dirigidas a reducir el impacto ambiental de las medidas de contención de fitoplasmas, a través de proyectos internacionales dirigidos a áreas tropicales y subtropicales, como TROPICSAFE financiado por la UE.

Palabras clave: '*Candidatus Phytoplasma*'

Abstract

The discovery, just fifty year ago, of a new group of plant pathogens related to bacteria led to the finding of polymorphic prokaryotes, in the phloem of many plant species affected by yellows-type diseases believed to be caused by viruses, considering their infectious nature and transmission by insects. Phytoplasmas lack relevant bacterial features such as cell wall, mobility, key enzymes and pathways. In the last years molecular data have provided considerable insights into phytoplasma molecular diversity, and genetic interrelationships; significant taxonomic progress has been achieved by the study of the 16S ribosomal gene and other conserved genes allowing designation of 33 ribosomal groups and 41 '*Candidatus Phytoplasma*' species. However while a restricted number of such pathogens appears to be associated with phytoplasma diseases in fruit crops in temperate areas, an increasing number of phytoplasma strains are detected and associated, alone or in association with other pathogens in tropical and subtropical fruit crops. Severe phytoplasma-associated epidemics were reported in citrus, coconut, papaya, litchi and longan, and phytoplasma presence was occasionally detected in mango, banana, pineapple, macadamia and passion fruit. In some of these species such as coconut in America and Africa the presence of specific phytoplasmas belonging to groups 16SrIV and 16SrXII was reported. However other ribosomal groups / '*Candidatus Phytoplasma*' species were detected in this and the other species (16rI, 16SrII, 16SrV, 16SrIX, and 16SrXII). The recent progress made in phytoplasma identification and molecular characterization together with the implementation of their growth in artificial media will help in devising management strategies aimed to reduce environmental impact of phytoplasma disease containment measures also through international projects targeting tropical and subtropical areas such as the EU financed TROPICSAFE.

Keywords: '*Candidatus Phytoplasma*'.

CM-F-5. LA LEPROSIS DE LOS CÍTRICOS: UNA ENFERMEDAD COMPLEJA Y MULTIETIOLÓGICA. / CITRUS LEPROSIS: A COMPLEX, MULTIETIOLOGIC DISEASE

Pedro L. Ramos-González^{1*}, Camila Chabi-Jesus^{1,2}, Gabriela Arena³, Elliot W. Kitajima⁴, Juliana Freitas-Astúa^{1,5}

¹Instituto Biológico de São Paulo. Av. Conselheiro Rodrigues Alves 1252, São Paulo 04014-002, Brazil. Tel: (55-11) 5087-1767. *plrg1970@gmail.com. ²PPG Microbiologia Agrícola ESALQ/USP, Piracicaba/SP, Brazil. ³CCSM APTA/IAC Cordeirópolis, São Paulo/SP, Brazil. ⁴NAP/MEPA/ESALQ/USP, 13418-900 Piracicaba/SP, Brazil. ⁵Embrapa Cassava and Fruits, Cruz das Almas/BA, Brazil.

Resumen

La leprosis de los cítricos (LC) es una enfermedad viral que afecta la citricultura Latinoamericana. Esta infección no sistémica induce manchas necróticas y/o cloróticas y es ocasionada por virus con genomas ARNsc bipartidos de los géneros *Cilevirus* y *Dichorhavirus*. La LC prevalente en Latinoamérica es del tipo citoplasmática (LC-C) causada por el cilevirus citrus leprosis virus C (CiLV-C) cuya población está genéticamente subdividida en dos clados que tienen una distribución geográfica contrastante. En Colombia, la LC-C también es causada por el cilevirus CiLV-C2, cuyo genoma muestra un 55% de identidad con CiLV-C. Causada por dichorhavirus, el tipo nuclear de la leprosis (LC-N) afectó la citricultura de la Florida, EE.UU., hace un siglo. La LC-N causada por orchid fleck virus (OFV-citrus) se detectó recientemente en huertos comerciales de México y Colombia. En Brasil, hasta el momento, los dichorhavirus citrus leprosis virus N (CiLV-N) y citrus chlorotic spot virus (CiCSV) sólo están presente en áreas no comerciales. Tanto CiLV-N como CiCSV tienen una relación filogenética relativamente distante con OFV (<65% identidad de nt). Todos los virus que causan LC son persistentemente transmitidos por ácaros del género *Brevipalpus*, aunque con particularidades para cilevirus y dichorhavirus. En su conjunto, un amplio espectro de especies e híbridos comerciales de cítricos son propensos a la infección por LC, y los síntomas visibles de esta enfermedad, al menos en las naranjas dulces infectadas por CiLV-C, parecen ser el resultado de una respuesta de hipersensibilidad. Estudios en curso basados en la metagenómica y la epidemiología molecular revelarán elementos desconocidos que ayudarán a implementar nuevas estrategias más eficaces y seguras para el control de la LC.

Palabras clave: leprosis, cítricos, *Dichorhavirus*

Abstract

Citrus leprosis (CL) is a viral disease currently affecting citrus orchards in Latin America. This non-systemic infection produces necrotic or chlorotic spots in leaves, stems and fruits, reducing citrus crop yield and leading to the death of younger trees. Viruses causing CL are assigned to two genera: *Cilevirus* [bipartite ss(+)RNA] and *Dichorhavirus* [bipartite ss(-)RNA]. Prevalent CL in orchards from Mexico to Argentina is the cytoplasmic type of the disease (CL-C), caused by the cilevirus citrus leprosis virus C (CiLV-C). CiLV-C population is genetically subdivided into two clades, which have a different and contrasted geographic distribution. While viruses from one clade have only been detected in commercial areas in the State of São Paulo, Brazil, those from the other occur all over the continent. In Colombia, CL-C is also caused by another cilevirus, CiLV-C2, whose genome shares only 55% nucleotide identity with CiLV-C. Nuclear type of leprosis (CL-N), caused by dichorhaviruses, have severely affected citrus orchards in Florida, USA, a century ago, and have been recently described in Mexico and Colombia. In those two countries, citrus strains of orchid fleck virus (OFV-citrus) occur in commercial orchards, whereas in Brazil, so far, citrus leprosis virus N (CiLV-N) and citrus chlorotic spot virus (CiCSV) are restricted to

Hotel Nacional de Cuba • del 15 al 19 de octubre • La Habana • Cuba

Fruticultura
V Simposio Internacional de
Fruticultura Tropical y Subtropical **2017**



CONFERENCIAS MAGISTRALES

MAGISTRAL LECTURES

3

small non-commercial areas. Both, CiLV-N and CiCSV display a relatively distant phylogenetic relationship with OFV (< 65% nt sequence identity). All viruses causing CL are persistently transmitted by false spider mites of the genus *Brevipalpus*, but distinguishing processes ensue from the cilevirus- and dichorhavirus- vector relationships. In sum, a large spectrum of citrus commercial species and hybrids are prone to CL infection, and the apparent symptoms, at least in sweet oranges infected by CiLV-C, seem to be the outcome of a hypersensitive-like response. These and ongoing studies based on molecular epidemiology and metagenomics approach will provide the necessary insights to generate more effective and safer control strategies of CL.

Keywords: leprosis, citrus, *Dichorhavirus*.

CM-F-6. FACTORES HORTICULTURALES QUE CONTRIBUYEN A LA TOLERANCIA AL HUANGLONGBING DE LOS CÍTRICOS. / HORTICULTURAL FACTORS THAT CONTRIBUTE TO TOLERANCE OF CITRUS TO HUANGLONGBING.

James H. Graham* y **Fernando Alferez****

Universidad de La Florida, Citrus Research & Education Center, Lake Alfred, FL 33850 USA. * jhgraham@ufl.edu; ** alferez@ufl.edu.
phone 1-863-956-8660; fax 1-863-956-4631.

Resumen

El Huanglongbing (HLB, alias *Citrus Greening*), asociado a la bacteria transmitida por psílidos limitados al floema, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las), es la enfermedad cítrica más devastadora en todo el mundo. Desde el descubrimiento del HLB en 2005, la producción de cítricos en la Florida ha disminuido más del 60% y las pérdidas de rendimiento continúan aumentando y la mayoría de las industrias subtropical americano están afectadas por el HLB, incluyendo a Cuba. Después de la transmisión del psílido al follaje inmaduro la bacteria se desplaza hacia abajo a través del floema hacia las raíces fibrosas donde Las se multiplica causando daño a las raíces y pérdidas de rendimiento $\geq 30\%$ antes de que se manifiesten síntomas de declinación en el follaje. En la Florida, los esfuerzos para vivir con HLB se han reunido con éxito mixto, por ejemplo, simplemente mejorar el suministro de nutrientes fertilizante no impide la pérdida de rendimiento inicial de hasta el 50%. Una vez estabilizada la salud de la raíz, se necesitan fertirrigación o fertilizantes de liberación controlada para mantener un suministro adecuado de nutrientes esenciales. Las gestiones hortícolas que han producido la recuperación de la salud y el rendimiento de los árboles incluyen tratamientos para reducir los bicarbonatos en el suelo y el agua de riego, modificación de las formas, formulaciones y tasas de fertilizantes y enmiendas orgánicas del suelo. Los plazos de fertilización y riego que suministran agua y nutrientes con más frecuencia a intervalos más cortos son necesarios para mantener la disponibilidad de absorción por el sistema de raíces dañadas. Las prácticas de manejo de suelos y agua aumentan el intercambio de cationes del suelo, la disponibilidad de nutrientes mediante el control del pH y la capacidad de retención de agua de los suelos de arena fina de la Florida.

Palabras clave: huanglongbing, salud raíz, manejo de la fertilización y riego.

Abstract

Huanglongbing (HLB; aka, Citrus Greening) associated with the phloem-limited psyllid-transmitted bacterium, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (Las), is the most devastating citrus disease worldwide. Since discovery of HLB in 2005, Florida citrus production has declined more than 60% and yield losses continue to increase there and in most other HLB-affected industries in the American subtropics, including Cuba. After psyllid transmission into the immature foliage the bacterium moves downward via phloem to the fibrous roots where Las multiplies to populations that cause root damage and yield losses of $\geq 30\%$ before overt decline symptoms are expressed in the canopy. In Florida, efforts to live with HLB have met with mixed success, e.g., simply enhancing fertilizer nutrient supply does not prevent initial yield loss of up to 50%. After root health has been stabilized, fertigation or controlled release fertilizers are necessary to maintain adequate supply of essential nutrients. Horticultural managements that have produced recovery of tree health and yield include treatments to reduce bicarbonates in soil and irrigation water, modification of the forms, formulations and rates of fertilizers, and soil organic amendments. Fertilization and irrigation schedules that supply water and nutrients more frequently at shorter intervals are required to maintain availability for uptake by the damaged root system. Soil and water management practices that increase soil cation exchange, nutrient availability by pH control, and water holding capacity of Florida's fine sand soils have sustained recovery of tree yields when integrated with properly-adapted rootstock cultivars.

Keywords: Citrus greening, root health, fertilization and irrigation management.

Hotel Nacional de Cuba • del 15 al 19 de octubre • La Habana • Cuba

Fruticultura
V Simposio Internacional de
Fruticultura Tropical y Subtropical **2017**



theobromae, *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Zasmidium citri*, *Phytophthora* sp., *Diaporthe* sp., *Fomitiporia maxonii*, *Pestalotiopsis* sp., *Dothiorella* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp. Pathogenicity was evaluated by inoculating each fungus into seedlings or separated parts under controlled laboratory conditions, reproducing the symptoms caused by each fungus. Taxonomic identification was completed in some isolates with molecular characterization by amplification of the ribosomal DNA region ITS1-5,8S-ITS4 by PCR. The amplicons obtained were sequenced and the sequences were compared with others present in GeneBank, using BLAST, which confirmed the identity of each fungal isolate.

Keywords: plant diseases, Phylogeny, ITS

FVP-1. COMPARACIÓN DE DIFERENTES ESQUEMAS DE MUESTREOS PARA LA ESTIMACIÓN DE LA INCIDENCIA DE HUANGLONGBING EN DIFERENTES CAMPOS DE CÍTRICOS EN CUBA. / FVP-1. COMPARISON OF DIFFERENT SAMPLING SCHEMES FOR THE ESTIMATION OF THE HUANGLONGBING INCIDENCE IN DIFFERENT CITRUS FIELDS IN CUBA.

Camilo Paredes-Tomás^{1*}, Lester Hernández-Rodríguez¹, Inés Peña-Bárcaga¹, Maritza Luis-Pantoja¹, Lochy Batista-Le Riverend¹, Leneidy Pérez-Pelea²

¹Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Ave. 7ma # 3005, e/30 y 32, Miramar, Playa. La Habana. Cuba. C.P. 11300.

*fitopatologia1@iift.cu. ²Departamento de Biología Vegetal, Universidad de La Habana, La Habana, Cuba.

Resumen

Huanglongbing de los cítricos (HLB) es considerada la enfermedad más devastadora de este frutal a nivel mundial. El monitoreo de plantas con síntomas de HLB es una herramienta primordial en la evaluación de las estrategias de manejo implementadas para el control de la enfermedad. Las prospecciones al 100 % de las plantas para determinar la incidencia de HLB requieren una considerable cantidad de tiempo y personal, lo que encarece y dificulta estos estudios. En este trabajo se evaluó la eficiencia de diferentes esquemas de muestreos para la estimación de la incidencia de HLB con respecto a la inspección al 100 % de las plantas. Se utilizaron los datos del estado sintomático (moteado asimétrico, síntoma característico de HLB) o asintomático, en 400 plantas de seis plantaciones evaluadas varias veces, para un total de 206 evaluaciones. Se calculó la incidencia de plantas con síntomas en el 100 % de los árboles, y se comparó con la obtenida a partir del procesamiento de estos datos según los esquemas de muestreos: Regular 1 (25 %), regular 2 (12 %), jerárquico 1 (35 %) y jerárquico 2 (25 %). Los cuatro muestreos evaluados mostraron diferencias significativas entre ellos, y respecto al muestreo del 100%. Ninguno de los esquemas de muestreos evaluados resultó adecuado para sustituir el muestreo del 100% de las plantas para estimar la incidencia de la enfermedad.

Palabras clave: comparación, esquemas de muestreos, incidencia, HLB

Abstract

Citrus huanglongbing (HLB) is considered the most devastating disease of this fruit crop worldwide. The monitoring of plants with HLB symptoms is a primary tool to evaluate the efficiency of management strategies implemented for the control of the disease. Surveys to 100 % of field plants to determine the HLB incidence require a considerable amount of time and workers, which make these studies more expensive and difficult. We evaluated the efficiency of different sampling schemes for estimating the incidence of HLB respect to the evaluation to the 100 % of field plants. For the comparisons were used the symptomatic (blotchy mottle, characteristic symptom of HLB) or asymptomatic status, of 400 plants from six fields surveyed several times, for a total of 206 evaluations. The incidence of symptomatic plants in 100% of the trees was calculated and compared to the obtained processing the data according to sampling schemes: regular 1 (25 %), regular 2 (12 %), hierarchical 1 (35 %) and hierarchical 2 (25 %). The four sampling methods evaluated showed significant differences among them and with the sampling in the 100 %. None of the sampling schemes evaluated was adequate to replace the sampling of 100% of the plants to estimate the incidence of the disease.

Keywords: comparison, sampling schemes, incidence, HLB.

FVP-2. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CITRUS CHLOROTIC SPOT VIRUS: UN NUEVO DICHORHAVIRUS QUE CAUSA LA LEPROSIS DE LOS CÍTRICOS. / MOLECULAR CHARACTERIZATION OF CITRUS CHLOROTIC SPOT VIRUS, A NEW DICHORHAVIRUS CAUSING CITRUS LEPROSIS-LIKE SYMPTOMS

C. Chabi-Jesus^{1,2}, P. L. Ramos-González^{2*}, J. E. A. Beserra Jr³, O. Guerra-Peraza^{2,4}, E. W. Kitajima⁵, A. D. Tassi⁵, R. Harakava¹, J. Freitas-Astúa¹

¹PPG Microbiología Agrícola ESALQ/USP, Piracicaba/SP, Brazil. ²Instituto Biológico de São Paulo. Av. Conselheiro Rodrigues Alves 1252, São Paulo 04014-002, Brazil. *plrg1970@gmail.com. ³Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brazil. ⁴Citrus Research & Education Center, University of Florida, FL, USA. ⁵NAP/MEPA/ESALQ/USP, 13418-900 Piracicaba/SP, Brazil. ⁶Embrapa Cassava and Fruits, Cruz das Almas/BA, Brazil.

Resumen

Endémica en las Américas, la leprosis de los cítricos (LC) es una enfermedad viral causada por un grupo de virus de los géneros *Cilevirus* y *Dichorhavirus*, con genoma de ARNsc y transmitidos por ácaros del género *Brevipalpus*. Manchas cloróticas localizadas, irregulares y semejantes a las lesiones iniciales de la LC se observaron en hojas de dos naranjos dulces (*Citrus sinensis* L.) en Teresina, Estado de Piauí, Brasil, en el 2017. Sin embargo, estas manchas eran generalmente mayores que las de LC típica, y mostraban menor o ninguna área necróticas. Los análisis por TEM de los tejidos sintomáticos revelaron la presencia de viroplasmias en los núcleos de las células infectadas del parénquima y partículas en forma de varilla con $\approx 40 \times 100$ nm, típicas de los dicorha virus. 20 ácaros que se colectaron en hojas sintomáticas se identificaron como *Brevipalpus* n. *yothersi*. Tras la secuenciación por NGS, el RNA1 (6548 nt, KY700685) y RNA2 (5987 nt, KY700686) de un virus denominado provisionalmente citrus chlorotic spot virus (CiCSV)



mostraron de forma global 56.9% de identidad nucleotídica con orchid fleck virus, 58.6% con citrus leprosis virus N y 73.8% con coffee ring spot virus. Con base en la secuencia del gen G de CiCSV, se demostró que un par de cebadores (G_CiCSV-F: 5'-CCTCCTCTTCTAGCGTCAT-3' y G_CiCSV-R: 5'-CTGTTTTGCCCATGCTAC-3') detecta específicamente CiCSV mediante RT-PCR. Este trabajo describe la presencia de la LC de tipo nuclear en la región nordeste de Brasil y la descripción del virus agente causal, el cual representa una nueva especie provisional del género *Dichorhavirus*.

Palabras clave: cítricos, leprosis, *Dichorhavirus*,

Abstract

Endemic in the Americas, citrus leprosis (CL) is a viral disease caused by a heterogeneous group of rod-shaped or bacilliform ssRNA viruses associated with *Brevipalpus* mites and assigned to the genera *Cilevirus* and *Dichorhavirus*. In 2017, local and irregular chlorotic spots resembling early lesions characteristics of CL were observed in leaves of two sweet orange (*Citrus sinensis* L.) trees in Teresina, State of Piauí, Brazil. However, despite the similarities, these spots were generally larger than those of a typical CL, with fewer or absence of necrosis. Analyses of symptomatic tissues by TEM revealed the presence of viroplasm in the nuclei of the infected parenchymal cells and rod-shaped particles with $\approx 40 \times 100$ nm, typical of dichorhavirus. Moreover, 20 mites that were collected during the examination of the symptomatic leaves were morphologically identified as *Brevipalpus* n. *yothersi*. After NGS sequencing, the RNA1 (6518 nt, GenBank accession number KY700685) and RNA2 (5987 nt, KY700686) of a virus tentatively named citrus chlorotic spot virus (CiCSV) showed 56.9% nucleotide sequence identity with orchid fleck virus, 58.6% with citrus leprosis virus N and 73.8% with coffee ring spot virus. Based on the sequence of the G gene of CiCSV, a primer pair (G_CiCSV-F: 5'-CCTCCTCTTCTAGCGTCAT-3' and G_CiCSV-R: 5'-CTGTTTTGCCCATGCTAC-3') proved to specifically detect CiCSV by RT-PCR. This report reveals the extent of CL-nuclear type disease in the Northeast region of Brazil, which is caused by a tentative new viral species of the genus *Dichorhavirus*, also described here.

Keywords: citrus, leprosis, *Dichorhavirus*

FVP-3. ESTUDIOS DE FORMULACIÓN DE COMPUESTOS SINTÉTICOS QUE ESTIMULAN LA DEFENSA EN PLANTAS DE CÍTRICOS. / FORMULATION STUDIES OF SYNTHETIC COMPOUNDS THAT STIMULATE DEFENSE IN CITRUS PLANTS

Ingrid Hernández*, Eduardo Canales, Osmani Guirola, Roxana Portieles, Mayra Rodríguez, Yuniór López, Luis Javier González, Orlando Borrás-Hidalgo and Meilyn Rodríguez.

Plant Functional Genomic Laboratory, Center for Genetic Engineering and Biotechnology (CIGB). *ingrid.hernandez@cigb.edu.cu

Resumen

La protección de las plantas contra los microorganismos infecciosos depende tanto de los mecanismos de defensa constitutivos como de los inducidos. La inducción de la resistencia a enfermedades es un método de gran importancia e interés en la actualidad, que permite el uso de mecanismos bioquímicos y moleculares, que ya existen en la planta, para su uso en el control de enfermedades. La defensa de las plantas contra patógenos comprende una serie de eventos relacionados con el reconocimiento, señalización y respuesta, conocido como inmunidad innata en las plantas. En nuestro trabajo utilizamos diferentes compuestos sintéticos para estimular la defensa natural y la inducción de la inmunidad en plantas de cítricos. Se estudió la formulación de estas moléculas para mejorar la actividad y persistencia del ingrediente activo en las hojas de la planta de *Arabidopsis*. En este sentido, se encontró que la combinación de DMF y PEG (1500) con pH neutro fue la mejor variante que permitió una respuesta de mejor expresión relativa en algunos genes relacionados con la defensa. Además, plantas de cítricos fueron asperjadas foliarmente con estos compuestos sintéticos y se comprobó la capacidad de los mismos para estimular la defensa natural de las plantas. Finalmente, la formulación de moléculas constituye una estrategia imprescindible para controlar las enfermedades de las plantas, pues contribuye a la activación del sistema inmune y la defensa de las mismas.

Palabras clave: formulación, sistema inmune de plantas, cítricos

Abstract

Protection of plants against infectious microorganisms depends on both constitutive and induced defense mechanisms. Induction of disease resistance is a method of great importance and interest at present, which allows the use of biochemical and molecular mechanisms that already exist in the plant for use in disease control. The defense of plants to disease comprises a series of events related to the recognition, signaling and response defined as innate immunity in plants. In our work we use different synthetic compounds for stimulating the natural defense and induction of resistance plant diseases, such as, citrus plants. We studied the formulation of these molecules to improve the activity and persistence of the active ingredient in *Arabidopsis* plant's leaves. In this regard, we have found that combination of DMF and PEG (1500) with neutral pH was the best variant which allowed an enhance response of relative expression in some defense related genes. Additionally, citrus plants were foliar sprayed with these synthetic compounds and tested the competence of these molecules for stimulating the natural defense. In conclusion, there is a need to explore new strategies based on activating the plant's own immune system and defense mechanism to control plant diseases.

Keywords: formulation, plant defense, citrus plant

