ITEA (2001), Vol. 97V N.° 3, 260-264

RESISTENCIA AL VIRUS DE LA SHARKA (*plum pox potyvirus*) EN ALMENDRO

F. Dicenta, M. Rubio, M. Gambín, P. Martínez-Gómez

Departamento de Mejora y Patología Vegetal. CEBAS-CSIC, Apartado 4195, 30080 Murcia, España
e-mail: fdicenta@natura.cebas.csic.es

RESUMEN

La sharka, enfermedad causada por el *plum pox potyvirus* (PPV), afecta a algunas especies del género *Prunus* como el albaricoquero, el melocotonero y el ciruelo, y en menor medida al cerezo y el guindo. En almendro, algunos aislados del PPV han sido transmitidos experimentalmente al cultivar 'Aï'. Estas plantas infectadas han sido incluso utilizadas como fuente de inóculo utilizando pulgones, mostrando así el papel potencial del almendro en la transmisión de la enfermedad. En este trabajo se ha estudiado en condiciones controladas el nivel de resistencia de 9 cultivares de almendro frente a un aislado Tipo D del PPV, injertando los cultivares sobre patrones (melocotonero GF305) inoculados. Ninguno de los cultivares ensayados mostraron síntomas y fueron ELISA negativos en comparación con los fuertes síntomas observados en el patrón inoculado, demostrando su resistencia al PPV.

Palabras clave: Almendro, *Prunus dulcis*, Sharka, *Plum pox potyvirus*, Resistencia.

SUMMARY
RESISTANCE TO SHARKA (*PLUM POX POTYVIRUS*) IN ALMOND

Sharka, disease caused by *plum pox potyvirus* (PPV), affects some *Prunus* species like apricot, peach and plum and in a lesser degree, sweet and sour cherry. In almond, different PPV isolates were experimentally transmitted to 'Aï' cultivar. Some of these infected almonds were even a source of virus for aphid vectors, showing the potential role of almond as a virus source in sharka epidemics. In this study, the resistance of nine important almond cultivars to a Type D PPV isolate was evaluated in controlled conditions, grafting the cultivars onto inoculated GF305 peach rootstocks. The results demonstrated the resistance to PPV of all assayed almond cultivars. They did not show any symptoms and were ELISA negative in comparison to the strong symptoms observed in the GF305 rootstock.

Key words: Almond, *Prunus dulcis*, Sharka, *Plum pox potyvirus*, Resistance.

Introducción

La sharka, enfermedad viral producida por el *plum pox potyvirus* (PPV), es en la actualidad uno de los factores limitantes más importantes para el cultivo de frutales en las zonas afectadas (NÉMETH, 1994). Este virus afecta a la mayoría de especies del género *Prunus* sobre todo albaricoquero, ciruelo y melocotonero. Más recientemente también

se ha detectado en guindo y cerezo (NEMCHINOV y HADIDI, 1996). El PPV se caracteriza por su gran variabilidad, si bien han sido descritos dos grandes grupos de aislados en Europa y América, Tipo Dideron (D) y Tipo Marcus (M) (QUIOT *et al.*, 1995). Otros aislados con una menor distribución son el Tipo El Amar (E) en el norte de África (WETZEL *et al.*, 1991) y el Tipo Cherry (C) en Europa central (NEMCHINOV y HADIDI, 1996). Actualmente, el control de la enfermedad se realiza mediante el arranque de los árboles enfermos y el uso de cultivares certificados libres de virus. Estas medidas reducen la dispersión del virus aunque sin garantizar su erradicación (DICENTA *et al.*, 1999).

La superficie cultivada de almendro en España es de unas 500.000 Ha. Si esta especie fuera susceptible al PPV o pudiera contribuir a su difusión, el control de la enfermedad sería todavía mas difícil. DALLOT *et al.* (1997) transmitieron experimentalmente el PPV al cultivar 'Aï', consiguiendo incluso transmitirlo desde almendros infectados a otras plantas mediante pulgones. Esto pone de manifiesto que el almendro podría contribuir a la propagación de la enfermedad, si bien hasta la fecha no se ha descrito ningún caso de infección natural en campo.

Este trabajo tiene como objetivo la evaluación en condiciones controladas del nivel de resistencia al PPV de 9 cultivares de almendro cultivados en España y Estados Unidos frente a un aislado del PPV representativo de la población española.

Material y métodos

Material vegetal

Los cultivares de almendro ensayados fueron los de origen español 'Desmayo Largueta', 'Marcona', 'Ramillete', 'Guara', 'Marta' y 'Antoñeta', los franceses 'Ferragnès' y 'Lauranne', y el de origen californiano 'Nonpareil'. Como patrón se utilizaron plantas procedentes de semillas de melocotonero GF305, caracterizado por su elevada susceptibilidad al *plum pox potyvirus* (BERNHARD *et al.*, 1969) y muy utilizado como patrón susceptible en los ensayos de evaluación de la resistencia al PPV de diversos *Prunus* (AUDERGON y MORVAN, 1990; GABOVA, 1994).

Aislado ensayado

Como fuente del *plum pox potyvirus* (PPV) se utilizó el aislado RB3.30, aislado Tipo Dideron (D) procedente de la colección de aislados del IVIA de Valencia, considerado representativo de la población española de aislados de PPV (ASENSIO, 1996).

Evaluación del nivel de resistencia

La evaluación *in vivo* del nivel de resistencia se realizó aplicando el método descrito por MARTÍNEZ-GÓMEZ y DICENTA (1998), en condiciones controladas en invernadero, utilizando como patrón el melocotonero GF305. Diez repeticiones de cada cultivar fueron injertadas sobre el patrón previamente inoculado mediante injerto de corteza con el PPV. Las plantas fueron sometidas a 2 ciclos de crecimiento artificial, con períodos de 4 meses en invernadero y 2 meses de letargo artificial en cámara fría a 7 °C y oscuridad.

La presencia de síntomas en el patrón fue indicativa de la eficiente inoculación del virus. La evaluación del nivel de resistencia frente al PPV de los cultivares ensayados se realizó mediante la observación de síntomas en hoja en cada ciclo de estudio, dos meses después de la salida de la cámara fría, utili-

zando una escala entre 0 (ausencia de síntomas) y 5 (máxima intensidad de síntomas). Para verificar la presencia o ausencia del virus, se aplicó la prueba ELISA-DASI con anticuerpos monoclonales 5B-IVIA específicos de PPV, realizando lecturas de densidad óptica a 405 nm a los 60 minutos (CAMBRA *et al.*, 1994). Los cultivares que no mostraron síntomas ni dieron ELISA+ fueron considerados resistentes.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en la evaluación de la resistencia de los cultivares de almendro estudiados se muestran en el cuadro 1. Después de dos ciclos de estudio, todos los cultivares de almendro ensayados ('Desmayo Largueta', 'Marcona', 'Ramillete', 'Guara', 'Marta', 'Antoñeta', 'Ferragnès', 'Lauranne' y 'Nonpareil') se mostraron resistentes al asilado ensayado.

Podemos observar que a pesar de los síntomas observados en el patrón GF305, con una intensidad media de 3,3 y 2,5 en el primer y segundo ciclo respectivamente, no se observaron síntomas en ninguno de los cultivares (cuadro 1, fig. 1). También es de destacar que ninguno de los cultivares dio ELISA positivo.

El nivel de resistencia al aislado Tipo D de PPV observado en todos los cultivares estudiados no coincide con los resultados obtenidos por DALLOT *et al.* (1997), que observaron la susceptibilidad del cultivar francés de almendro 'Aï' a aislados Tipo D y M, en condiciones de inoculación artificial mediante injerto de corteza.

Cuadro 1. Evaluación de la resistencia de 9 cultivares de almendro al aislado Tipo D RB3.30 del *Plum pox potyvirus*. Porcentaje de patrones GF305 y cultivares de almendro mostrando síntomas después de dos ciclos de estudio. Entre paréntesis, intensidad media de síntomas para las plantas enfermas

Table 1. Evaluation of resistance of 9 almond cultivars to the Type D isolate RB3.30 of plum pox potyvirus. *Percentage of GF305 rootstocks and almond cultivars with symptoms in the two cycles studied. In parenthesis, mean intensity of symptoms for diseased plants*

	Ciclo 1		Ciclo 2	
	GF305	Cultivar	GF305	Cultivar
'Antoñeta'	100 (3,2)	0 (—)	100 (2,8)	0 (—)
'Marta'	67 (3,2)	0 (—)	75 (2,7)	0 (—)
'Guara'	70 (3,9)	0 (—)	90 (3,4)	0 (—)
'Marcona'	71 (2,2)	0 (—)	67 (2,2)	0 (—)
'Desmayo'	40 (4,4)	0 (—)	50 (2,6)	0 (—)
'Ramillete'	55 (3,6)	0 (—)	78 (2,3)	0 (—)
'Ferragnès'	43 (1,7)	0 (—)	44 (1,5)	0 (—)
'Lauranne'	89 (4,1)	0 (—)	80 (2,6)	0 (—)
'Nonpareil'	44 (3,0)	0 (—)	43 (2,7)	0 (—)
Media	60 (3,3)	0 (—)	65 (2,5)	0 (—)



Figura 1. Cultivar 'Antoñeta' injertado sobre melocotonero GF305 inoculado con el PPV. Es posible observar la ausencia de síntomas de PPV en este cultivar frente a los fuertes síntomas que presenta el GF305.

Figure 1. 'Antoñeta' cultivar grafted onto GF305 peach inoculated with PPV. It is possible to see the absence of sharka symptoms in the cultivar in front of the strong symptoms showed in the GF305.

Por otro lado, DALLOT *et al.* (1997) indicaron también una menor susceptibilidad de este cultivar de almendro a aislados Tipo D frente a aislados Tipo M. Estos aislados Tipo M han sido descritos como más agresivos en albaricoquero que los aislados Tipo D (QUIOT *et al.*, 1995) utilizados en este ensayo. Esta menor patogenicidad podría explicar el alto nivel de resistencia observado frente a nuestro aislado Tipo D.

Podemos concluir que los resultados obtenidos muestran la resistencia del almendro al aislado ensayado, y en consecuencia no parece probable que este frutal pueda contribuir a la difusión de la enfermedad en países como España y Estados Unidos, máximos productores mundiales de almendro, donde hasta la fecha sólo se han descrito aislados Tipo D, como el utilizado en este ensayo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGF98-0991-C02-01 del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía

AUDERGON J.M., MORVAN G., 1990. A rapid method for assessing the sensivity of apricot to *Plum Pox Virus*. 2 Rencontres de Virologie Vegetale. Aussois (France), enero 1989, 13.

ASENSIO M., 1996. El virus de la sharka (*plum pox virus*): Caracterización, diagnóstico y detección mediante anticuerpos monoclonales específicos. Ed. Universidad Valencia.

BERNHARD R., MARÉNAUD C., SUTIC D., 1969. Le pêcher GF305 indicateur polyvalent des virus des espèces à noyau. Ann. Phytopathol. 1: 603-617.

CAMBRA M., ASENSIO M., GORRIS M.T., CAMARASA E., GARCIA J.A., MOYA J.J., LÓPEZ-ABELLA D., VELA C., SANZ A., 1994. Detection of *Plum pox virus* using monoclonal antibodies to structural and non-structural proteins. Bull. EPPO 24 (3): 569-578.

DALLOT S., BOUSALEM M., BOEGLIN M., RENAUD L.Y., QUIOT J.B., 1997. Potential role of almond in sharka epidemics: susceptibility under controlled conditions to the main types of *plum pox potyvirus* and survey for natural infections in France. Bull. EPPO 27: 539-546.

DICENTA F., PÉREZ-CAMPOY P., MARTÍNEZ-GÓMEZ P., GARCÍA BRUNTON J., BOTELLA M.A., 1999. Natural spread of sharka disease in fruit tree orchards in Murcia (Spain). Acta Hortic. 488 (2): 769-773.

GABOVA R., 1994. Evaluation of peach and nectarine cultivars in Bulgaria for their resistance to *plum pox potyvirus*. Bull. EPPO 24 (3): 755-760.

MARTÍNEZ-GÓMEZ P., DICENTA F., 1998. Evaluación de la resistencia al virus de la sharka (*Plum pox potyvirus*) en albaricoquero. ITEA 94(2): 76-88.

NEMCHINOV L., HADIDI A., 1996. Characterization of the sour cherry strain of *plum pox virus*. Phytopathology 86: 575-580.

NÉMETH M., 1994. History and importance of plum pox in stone-fruit production. Bull. EPPO 24 (3): 525-537.

QUIOT J.B., LABONNE G., BOEGLIN M., ADAMOLLE C., RENAUD L.Y., CANDRESSE T., 1995. Behaviour of two isolates of *Plum pox virus* inoculated on peach and apricot trees. Firts results. Acta Hortic. 386: 290-294.

WETZEL T., CANDRESSE T., RAVELONANDRO M., DELBOS R.P., MAYZAD H., ABOUL-ATA A.E., DUNEZ J., 1991. Nucleotide sequence of the 3'-terminal region of the RNA of the EL Amar strain of *plum pox potyvirus*. J. Gen. Virol. 72: 1741-1746.