



Prevalence of thickening syndrome of cladodes on cactus pear in the north-center region of Mexico

Prevalencia del engrosamiento del cladodio del nopal en el centro norte de México

Perales-Segovia, C.^{1*}, De La Torre-Pizaña, M. A.¹, Valera-Montero, L. L.¹, Espinoza-Sánchez, E. A.², Sanjuan-Lara, F.³ y Silos-Espino, H.¹.

¹Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, Laboratorio de Biotecnología Aplicada y Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. km 18, carretera Aguascalientes - S. L. P. El Llano Aguascalientes, México. C. P. 20330.

²Universidad Autónoma de Nuevo León, Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Agronomía, carretera a Laredo, km 15. General Escobedo. Ex Hacienda El Canadá. Escobedo, N. L. México. C. P. 66050.

³Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 79, km 3.5 camino a San Luis del Pino, Zinacatepec, Puebla, México.

ABSTRACT

A plant population of cactus pear with thickening syndrome of cladodes on the north-center region of Mexico was detected, ranging from 3 to 30 % of visible damages. Cultivated *Opuntia ficus-indica*, var. Copena, located at San Francisco de los Romo Aguascalientes, México, showed the highest prevalence, probably due to the intensive culture production. Coincidentally, Aguascalientes State had the highest number of sick plants from the four States in the study. Electronic microscopy showed individual cell structures (500-1800 nm) similar to phytoplasmas. The thickening syndrome of cladodes is present in all commercial cactus pear orchards studied in the north-center region of Mexico, and results of this work provide recent information on the situation of the disease in the production zone of cactus pear and evidences of the phytopathogen needed to propose an integrated management program of the cactus pear that supports local producers.

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: February 3rd 2017.

Accepted/Aceptado: July 7th 2017.

Available on line/Publicado: September 20th 2018.

*Corresponding Author:

Catarino Perales-Segovia. Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, Laboratorio de Biotecnología Aplicada y Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. km 18, carretera Aguascalientes - S. L. P. El Llano Aguascalientes, México. C. P. 20330. E-mail: cperales55@hotmail.com

RESUMEN

Se detectó una población de plantas de nopal con engrosamiento de cladodio en el centro norte de México, con un porcentaje de daños visibles de 3 a 30%. *Opuntia ficus-indica*, var. Copena, de San Francisco de los Romo, Aguascalientes, fue el cultivar con cladodios comestibles con mayor prevalencia, atribuible a la producción intensiva del cultivo. El estado de Aguascalientes también presentó significativamente el mayor número de plantas enfermas de los cuatro estados bajo estudio. La microscopía electrónica mostró estructuras celulares individuales (500-1800 nm) parecidas a fitoplasmas. El engrosamiento del cladodio está presente en todas las huertas comerciales de nopal estudiadas en el centro norte de México, y los resultados del presente trabajo proporcionan información reciente sobre la situación de la enfermedad en la zona productora de nopal y evidencias del fitopatógeno, necesarios para proponer un programa de manejo integrado del nopal que apoye a los productores locales.

PALABRAS CLAVE

Opuntia; fitoplasmas; microfotografías; fitosanidad.

KEY WORDS

Opuntia; phytoplasmas; microphotography; phytosanitary.

Introduction

The cactus pear, as a cultivated plant, has been currently introduced to more than thirty countries all over the world, where it can be used as a vegetable, cactus pear fruit, fodder, and in the agroindustry (Méndez-Gallegos and García-Herrera, 2006). In Mexico, the production of cactus pear as a vegetable is located in the states of Morelos, Ciudad de Mexico, Baja California, Puebla, Zacatecas and Aguascalientes with a production of 787,000 tons per year, placing Mexico as one of the main producers (SIAP, 2014). Additionally to its nutritional value, the cladodes of the cactus pear contain several compounds with great value like antioxidants, which can be used in alternative medicine to eliminate free radicals (Feugang *et al.*, 2006; Msaddak *et al.*, 2015). Cactus pear culture is affected by diseases that limit production, caused by *Armillaria mellea*, *Macrophomina* sp., *Sclerotinia* sp., *Phytophthora* sp., *Erwinia carotovora*, *Pseudomas viridiflava*, *Xanthomonas* sp., *Gnomonia* sp., *Dothioerella* sp., *Alternaria* sp., *Cercospora* sp., *Phoma* sp., *Cytospora* sp., *Gloesporium* sp., *Pleospora* sp., *Colletotrichum* sp., *Capnodium* sp., *Mycosphaerella* sp., *Fusarium* sp., *Phyllosticta opuntiae*, *Aecidium* sp., *Agrobacterium tumefasciens* and X Virus of the cactaceae, which cause different symptoms like: putrefaction, gum mosis, stains, anthracnose, sooty mold, scorch, wilt, mange, rust disease, and nutgalls (Borrego and Burgos, 1986; Hernandez-Perez *et al.*, 2009). One of the most devastating diseases is known as "planta macho," characterized by the thickening of the cladodes, presence of tessellation, yellow coloration and deformation of the fruits (Cai *et al.*, 2001; Bertaccini *et al.*, 2007; Fucikovsky *et al.*, 2001; Suaste *et al.*, 2012). It is related to viruses, but it is mainly associated to phytoplasmas (Clase Mollicutes) (Pimienta-Barrios, 1990; Bertaccini *et al.*, 2007; Fucikovsky *et al.*, 2011; Suaste-Dzul *et al.*, 2012). These microorganisms are factors to more than 700 diseases in plants and are exclusively located in the phloem in a heterogeneous form, and because of their low population and size, they make their detection difficult (Lee *et al.*, 1995; Wei *et al.*, 200; Harrison *et al.*, 2002; Reddy *et al.*, 2001; Weintraub, 2007; Hogenhout and Segura, 2010).

Introducción

El nopal, como planta cultivada, se ha introducido actualmente a más de 30 países en todo el mundo, en donde se aprovecha como verdura, tuna, forraje y en la agroindustria (Méndez-Gallegos y García-Herrera, 2006). En México la producción de nopal verdura se ubica en los estados de Morelos, Ciudad de México, Baja California, Puebla, Zacatecas y Aguascalientes con una producción de 787 000 t año⁻¹, posicionando a México como uno de los principales productores (SIAP, 2014). Además de su valor nutricional, los cladodios de nopal contienen varios compuestos con gran valor como antioxidantes, mismos que se pueden utilizar en la medicina alternativa para eliminar los radicales libres (Feugang *et al.*, 2006; Msaddak *et al.*, 2015). Al cultivo de nopal lo afectan enfermedades que limitan la producción, provocadas por *Armillaria mellea*, *Macrophomina* sp., *Sclerotinia* sp., *Phytophthora* sp., *Erwinia carotovora*, *Pseudomas viridiflava*, *Xanthomonas* sp., *Gnomonia* sp., *Dothioerella* sp., *Alternaria* sp., *Cercospora* sp., *Phoma* sp., *Cytospora* sp., *Gloesporium* sp., *Pleospora* sp., *Colletotrichum* sp., *Capnodium* sp., *Mycosphaerella* sp., *Fusarium* sp., *Phyllosticta opuntiae*, *Aecidium* sp., *Agrobacterium tumefasciens* y Virus X de las cactáceas, las cuales provocan diferentes síntomas como: pudriciones, gomosis, manchas, antracnosis, fumagina, chamusco, marchitez, roñas, roya y agallas (Borrego y Burgos, 1986; Hernández-Pérez *et al.*, 2009). Una de las enfermedades más devastadoras, es conocida como "planta macho", caracterizada por el engrosamiento de cladodios, presencia de mosaicos, amarillamiento y deformación de los frutos (Cai *et al.*, 2001; Bertaccini *et al.*, 2007; Fucikovsky *et al.*, 2011; Suaste *et al.*, 2012). Se relaciona con virus, pero principalmente se le asocia con fitoplasmas (Clase Mollicutes) (Pimienta-Barrios, 1990; Bertaccini *et al.*, 2007; Fucikovsky *et al.*, 2011; Suaste-Dzul *et al.*, 2012). Estos microorganismos son agentes causales de más de 700 enfermedades en plantas y se ubican exclusivamente en los vasos floemáticos de forma heterogénea y que por su baja población y tamaño, dificultan su detección (Lee *et al.*, 1995; Wei *et al.*, 2000; Harrison *et al.*, 2002; Reddy *et al.*, 2001; Weintraub, 2007; Hogenhout y Segura, 2010). Además, su dispersión se asocia a insectos plaga como chinches (*Chelinidea* sp.) y caracoles (*Helix aspersa*). La transmisión se incrementa debido a malezas asociadas a los cultivos como *Argemone mexicana* y *Lupinus* sp. que son reservorios de fitoplasmas del 'áster amarillo 16Sr1' que produce síntomas de planta macho (Hernández-Pérez *et al.*, 2009; Fucikovsky *et al.*, 2011). El cultivo *in vitro* de fitoplas-

In addition, its dispersion is related to plagues like beebugs (*Chelinidea* sp.) and snails (*Helix aspersa*).

The transferring increases due to bushes and weeds related to cultivations like Argemone Mexicana and *Lupinus* sp. that act as reservoir to phytoplasmas of "yellow aster 16Sr1" which causes symptoms of planta macho (Hernandez-Perez et al., 2009; Fucikovsky et al., 2011). The cultivation *in vitro* of phytoplasmas has not been achieved yet; its detection, identification and classification have been done through techniques of PCR, RFLPs and phylogenetic analysis by comparing the 16S rRNA gene and electronic microscopy on other cultivated plants (Seemuller et al., 198; Hodgetts et al., 2007; Lebsky et al., 2010; Suaste et al., 2012). Therefore, the purpose of this investigation was to determine the prevalence of the disease known as the thickening of the cladode in commercial orchards of cactus pear in the north-center region of Mexico, and identify the factor through electronic microscopy.

Materials and Methods

Site of study and gathering of biological material

The study was executed in six commercial orchards with different types of cactus pear, belonging to three species: *Opuntia ficus-indica*, *O. megacantha* and *O. albicarpa* (Table 1) found in four states of the north-center region of Mexico, chosen for being in production, for having a similar agronomic management, of surfaces between 5 and 10 ha, and for being representatives

mas aún no se ha logrado, su detección, identificación y clasificación se ha realizado mediante técnicas de PCR, RFLPs y análisis filogenéticos por comparación del gen 16S rRNA y por microscopía electrónica en otras plantas cultivadas (Seemüller et al., 1998; Hodgetts et al., 2007; Lebsky et al., 2010; Suaste et al., 2012). Por todo lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la prevalencia de la enfermedad denominada engrosamiento del cladodio en huertas comerciales de nopal, en el centro-norte de México, e identificar al agente causal mediante microscopía electrónica.

Materiales y Métodos

Sitios de estudio y colecta del material biológico

El estudio se efectuó en seis huertas comerciales con diferentes tipos de Nopal, pertenecientes a tres especies: *Opuntia ficus-indica*, *O. megacantha* y *O. albicarpa* (Tabla 1) localizadas en cuatro estados de la región centro-norte de México, seleccionadas por estar en producción, por tener un manejo agronómico similar, de superficies entre 5 y 10 ha, y por ser representativas del desarrollo de la enfermedad en plantaciones destinadas a la producción de nopal verdura y tuna (SIAP, 2016).

Determinación de la prevalencia de la enfermedad

Para determinar la prevalencia de la enfermedad *in situ* se evaluaron al azar, mediante el método de Cinco de Oros, 50 plantas por huerta, en dos muestreos, uno al final

Table 1.
Opuntia orchards selecting for monitoring and detection of Cladode Thickening on the four states of the Mexico north-center region.

Tabla 1.
Huertas de nopal seleccionadas para el muestreo y detección del engrosamiento del cladodio en cuatro estados de la región centro-norte de México.

Orchard	Scientific Name/Comun Name	Use
Orchard 1 (Ags.)	<i>O. ficus-indica</i> /Copena	Vegetable
Orchard 2 (Jal.)	<i>O. ficus-indica</i> y <i>O. albicarpa</i> /Amarilla y Burrona	Fruit
Orchard 3 (S.L.P.)	<i>O. albicarpa</i> /Burrona	Fruit
Orchard 4 (Zac.)	<i>O. albicarpa</i> /Burrona	Fruit
Orchard 5 (Zac.)	<i>O. megacantha</i> /Picochulo	Fruit
Orchard 6 (Zac.)	<i>O. ficus-indica</i> y <i>O. albicarpa</i> /Amarilla y Burrona	Fruit

*Ags=Aguascalientes State, Jal= Jalisco State, S.L.P. =San Luís Potosí State, Zac=Zacatecas State.

*Ags=Aguascalientes Estado, Jal= Jalisco Estado, S.L.P. =San Luís Potosí Estado, Zac=Zacatecas Estado.

of the evolution of the disease in plantations destined to the production of tuna and cactus pear as vegetable (SIAP, 2016).

Determination of prevalence of the disease

In order to determine the prevalence of the disease *in situ* (in the original position), 50 dead plants were randomly evaluated through the "Cinco de Oros" method, in two samplings, one at the end of winter and the other one in the middle of summer in 2014. The number of plants with the typical symptomatology of thickening of the cladode was recorded. In total, 600 cactus pear plants were checked, having recorded as sick plants the ones with symptoms like: proliferation of fruits, tessellation, yellow coloration, fruit deformation, heart-shaped cladodes reduced in size and with proliferation of sprouts in the flat part of the cactus pear, characteristic of the thickening of the cladode. The data of sick plants was statistically analyzed in a completely random design, by orchard and state (for the results by state, the data of three orchards from Zacatecas were averaged out) and the respective comparison tests of measurements of Tukey ($p < 0.05$) were performed.

Analysis and identification through electronic microscopy

Scanning electron microscope analysis (Jeol LV 5900) were performed in the Laboratory of Electronic Microscopy in the Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, Mexico. Hereto, samplings of cladodes with the symptomatology of the disease of the strain from San Francisco de los Romo, Aguascalientes. 0.7 centimeter-long samplings were cut out from the middle part of the parenchyma and collenchyma of cladodes, from cactus pear plants with symptoms and without visible symptoms. The samplings were dehydrated through fastening using glutaraldehyde to 2.5 % in phosphate buffer saline (PBS) pH (potential of hydrogen) 7.4, they were preserved at 4 degrees Celsius afterwards. Passed the time, the samplings were put in 1.5-milliliter polyethylene tubes, while adding ethanol to the 30, 50, 70, 96, and 100 % respectively, in a sequenced way with changes every two minutes. Next, the pieces of the tissue were cut in the middle and were put on a microtome Leica UltraCut to obtain 400-nanometer cuts; the samplings were dyed with toluidine blue. Finally, thirty 120-nanometer cuts were done using a diamond microknife, the samplings were dried with filter paper and dyed with uranyl acetate over the course of 45 minutes at room temperature, followed by a one minute cleansing in distilled water and 5 minutes in lead citrate.

del invierno y el otro a mediados del verano del año 2014. Se registró el número de plantas con la sintomatología típica del engrosamiento del cladodio. En total se revisaron 600 plantas de nopal, registrando como enfermas aquellas con síntomas tales como: proliferación de frutos, mosaico, amarillamiento, deformación de frutos, cladodios "acorazonados" reducidos en tamaño y con proliferación de brotes en la parte plana del nopal, característicos del engrosamiento del cladodio. Los datos de plantas enfermas se analizaron estadísticamente en un diseño completamente al azar, por huerta y por estado (para los resultados por estado, se promediaron los datos de las tres huertas de Zacatecas) y se hicieron las respectivas pruebas de comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$).

Análisis e identificación por microscopía electrónica

Se realizaron análisis de microscopía electrónica de barrido (Jeol LV 5900) en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, México. Para esto, se tomaron muestras de cladodios con la sintomatología de la enfermedad de la variedad Copena de San Francisco de los Romo, Aguascalientes. Se cortaron muestras de 0.7 cm de la parte intermedia del parénquima y colénquima de cladodios, de plantas de nopal con síntomas y sin síntomas visibles. Las muestras fueron deshidratadas por fijación con glutaraldehído al 2.5 % en buffer salino de fosfatos (PBS) pH 7.4, posteriormente se conservaron a 4 °C durante 7 días. Transcurrido el tiempo, las muestras se colocaron en tubos de polietileno de 1.5 mL adicionándoles etanol al 30, 50, 70, 96 y 100 % respectivamente, de forma secuenciada con cambios cada 20 minutos. Después, las piezas de tejido se cortaron a la mitad y se montaron en un micrótopo Leica UltraCut para obtener cortes de 400 nm; las muestras fueron teñidas con azul de toluidina. Finalmente, se realizaron 30 cortes de 120 nm con una micro navaja de diamante, las muestras fueron secadas con papel filtro y teñidas con acetato de uranilo durante 45 minutos a temperatura ambiente, seguido de un lavado de 1 minuto en agua destilada y 5 minutos en citrato de plomo.

Resultados y Discusión

Prevalencia del engrosamiento del cladodio del nopal

De acuerdo con los resultados obtenidos de las diferentes huertas de nopal, se presentaron diferencias

Results and Discussion

Prevalence of the thickening of the cladodes in cactus pear

According with the results obtained from the different orchards of cactus pear, statistically important differences presented, the orchard from San Francisco de los Romo, Aguascalientes (orchard 1), showed the highest incidence out of the plants of the same genotype Copena with symptoms of the disease with an average of 18 sick plants and 10 dead ones. Also, the plantation from Villa Garcia, Zacatecas, (orchard 6) showed the lowest prevalence with averages of 1.5 sick plants and 3 dead ones. The other orchards showed different damage levels caused by the thickening of the cladode (Table 2).

estadísticamente significativas en las dos variables registradas, la huerta de San Francisco de los Romo, Aguascalientes (Huerta 1), mostró la incidencia más alta de plantas del genotipo Copena con síntomas de la enfermedad con un promedio de 18 plantas enfermas y 10 plantas muertas. Asimismo, la plantación de Villa García, Zacatecas (Huerta 6), presentó la prevalencia más baja con promedios de 1.5 plantas enfermas y 3 plantas muertas. Las demás huertas presentaron diferentes niveles de daño provocado por el engrosamiento del cladodio (Tabla 2). Todas las especies de nopal comercial estudiadas mostraron susceptibilidad a la enfermedad.

Las diferencias entre los estados incluidos en este estudio, fueron estadísticamente significativas en la cantidad de plantas muertas solamente. En promedio el estado de Aguascalientes fue el más afectado por la enfermedad, con más de

Table 2.
Thikening syndrome of cladode effects on Opuntia comercial orchards of fruit and vegetable on the Mexico north-center region.

Tabla 2.
Efecto del engrosamiento del cladodio del nopal en huertas comerciales de nopal para tuna y verdura en el centronorte de México.

Orchard	Sick plants
Orchard 1 (Ags.)	18.00 a*
Orchard 2 (Jal.)	2.00 b
Orchard 3 (SLP)	3.50 b
Orchard 4 (Zac.)	12.00 ab
Orchard 5 (Zac.)	9.00 ab
Orchard 6 (Zac.)	1.50 b

*Means with the same literal are the same (Tukey $p < 0.05$).

*Los medios con el mismo literal son los mismos (Tukey $p < 0.05$).

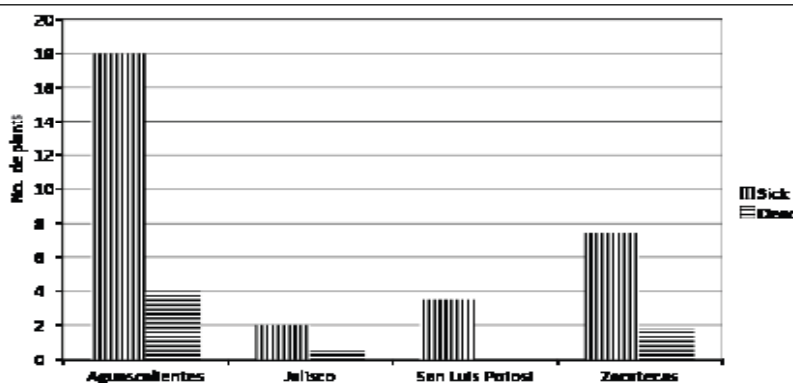


Figure 1. Results of sick and dead cactus pear plants on the north-center states of Mexico.

Figura 1. Resultados de plantas de nopal enfermas y muertas en los estados del centro - norte de México.

All of the commercial cactus pear species showed susceptibility to the disease.

The differences among the states included in this study were statistically significant in the amount of dead plants only. On average, the state of Aguascalientes was the most affected by the disease, followed by the states of Zacatecas and Jalisco. Mortality caused by the disease was not present in the state of San Luis Potosí (Figure 1).

Electronic microscopy

In the microphotographies of the scanning electron microscopy, cylindrical bodies appear as individual cells of variable size (500 to 1800 nanometers), and are distinguished from other compounds due to some that are duplicating; similar to the ones reported by Lebsky *et al.*, (2010) in papaya fruits; cylindrical structures of greater size (μm) were also observed (Figure 2).

The cactus pear and other cultivated species are affected by phytosanitary problems of economic importance that can cause damages in all of their organs, which causes anchoring problems in the plant, and impedes absorption, transformation, and translocation of nutrients with effects on the efficiency and quality of production (Hernandez-Perez

siete plantas muertas, seguidos por los estados de Zacatecas y Jalisco. En el estado de San Luis Potosí no se presentó mortalidad ocasionada por la enfermedad (Figura 1).

Microscopía electrónica

En las microfotografías de Microscopía Electrónica de Barrido se observaron cuerpos cilíndricos que aparecen como células individuales de tamaño variable (500 a 1800 nm), y que se distinguen de otros componentes celulares debido a que algunas se están replicando; semejantes a las reportadas por Lebsky *et al.*, (2010) en frutos de papaya; también se observaron estructuras cilíndricas de mayor tamaño (10 μm) (Figura 2).

El nopal y otras especies cultivadas, son afectadas por problemas fitosanitarios de importancia económica que pueden ocasionar daños en todos sus órganos lo que ocasiona problemas de anclaje de la planta, e impide la absorción, transformación y translocación de nutrientes con efectos sobre el rendimiento y la calidad de la producción (Hernández-Pérez *et al.*, 2009; Méndez-Gallegos y García-Herrera, 2006). De estas enfermedades, los fitoplasmas son considerados como uno de los principales problemas sanitarios en todas las zonas nopales del país, debido a su amplia distribución (Bertaccini *et al.*, 2007; Pimienta-Barrios, 1990; Weintraub, 2007).

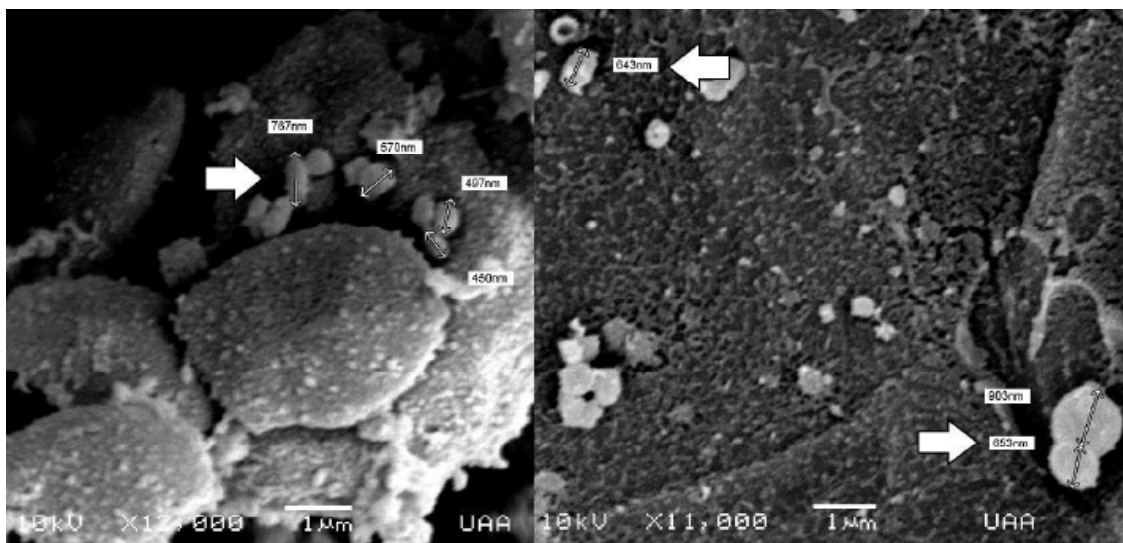


Figure 2. Microphotographs of cactus pear plants var. Copena samples with thickening syndrome of cladodes symptoms, with structures like phytoplasmas.

Figura 2. Microfotografías de muestras de plantas de nopal de la variedad Copena con síntomas del engrosamiento del cladodio, con estructuras parecidas a fitoplasmas.

et al., 2009; Mendez-Gallegos and Garcia-Herrera, 2006). Out of these diseases, phytoplasmas are considered to be the main sanitary problem in all of the opuntia zones of the country, due to its wide distribution (Bertaccini *et al.*, 2007; Pimienta-Barrios, 1990; Weintraub, 2007). A percentage of 3 to 30 % of sick plants was found in the four states where the study was held, which differs from what Hernandez-Perez *et al.*, (2009) found, who detected only a 15 % of sick plants in cactus pear orchards in the Estado de Mexico. Microorganisms were spotted through electronic microcopy, similar inform and size to the factor causing the thickening of cladode in orchards in the north-center region of Mexico. It was found that in sick plants there was a high population with damages of the thickening of cladodes, tessellation, yellow coloration, deformation of fruits, heart-shaped cladodes, cladodes and fruits reduced in size, with proliferation of sprouts in the flat side of the cladode, just as described as diseases caused by phytoplasmas (Bertaccini *et al.*, 2007; Hernandez-Perez *et al.*, 2009). The high incidence of the thickening of cladodes in some orchards could be due to the genetic susceptibility, to the high amount of plants produced under macro-tunnel and/or intensive conditions, to produce in less time the highest amount of plants (use of manure and fertilizer). However, even though the disease is widely distributed, we found that the damage caused is not that severe, since from attacked plants, few died and the majority kept their production.

The cactus pear, just like other cultivations of economic interest, show susceptibility to the infection by pathogenic microorganisms causing a decrease in the production; for the efficient control of diseases, it requires an identification of the causing factor; it does not represent high reliability if done by visual methods, due to not much or no symptomatology of some plants; also, it is considered necessary to carry out more researches to identify the mechanisms of pathogenicity and to know how plants react to the infection, minimizing the symptoms of the disease. On the other hand, given that the methods to detect phytoplasmas with high reliability are expensive and define the study of genomes, it is required to develop a method of diagnostics more affordable, and to make a proposal about a program for the integrated handling of the disease. The plantation from San Francisco de los Romo, Aguascalientes, showed the highest prevalence of the disease, in relation to dead and sick plants. The orchard from Villa Garcia, Zacatecas, showed the lowest prevalence. As to the prevalence by state, Aguascalientes showed the most damages and the lowest incidence of the thickening of cladodes was shown

Se encontró un porcentaje de plantas infectadas de 3 a 30 % en los 4 estados donde se realizó el estudio, lo cual difiere de lo encontrado por Hernández-Pérez *et al.*, (2009), quienes detectaron solo un 15 % de plantas enfermas en huertas de nopal del estado de México. Se ubicaron por microscopía electrónica microorganismos, semejantes en forma y tamaño al agente causal del engrosamiento del cladodio en huertos de nopal de la región centro-norte de México.

En plantas enfermas se encontró que existe alta población con daños del engrosamiento de cladodio, como proliferación de frutos, mosaico, amarillamiento, deformación de frutos, acorazonado de cladodios, cladodios y frutos reducidos en tamaño, con proliferación de brotes en la cara plana del cladodio, tal como ha sido descrito para enfermedades provocadas por fitoplasmas (Bertaccini *et al.*, 2007; Hernández-Pérez *et al.*, 2009). La alta incidencia del engrosamiento del cladodio en algunas de las huertas, puede deberse a la susceptibilidad genética, a la alta cantidad de planta producida bajo condiciones de macrotúnel y/o al manejo intensivo, para producir en menor tiempo la mayor cantidad de planta (uso de estiércol y fertilizantes). No obstante, si bien la enfermedad se encuentra distribuida ampliamente, encontramos que el daño ocasionado no es tan grave, ya que, de las plantas atacadas, pocas mueren y la mayoría conserva su producción.

Los nopales, al igual que otros cultivos de interés económico, muestran susceptibilidad a la infección por microorganismos patógenos causando una disminución en la producción; para el control eficiente de las enfermedades se requiere una identificación segura del agente causal, lo que por métodos visuales no representa una alta confiabilidad debido a la poca o nula sintomatología de algunas plantas; asimismo, se considera necesario realizar más investigación para identificar los mecanismos de patogenicidad y conocer cómo las plantas reaccionan a la infección, minimizando los síntomas de la enfermedad. Por otro lado, dado que los métodos de detección de fitoplasmas con alta confiabilidad son caros y precisan del estudio de los genomas, se requiere desarrollar un método de diagnóstico más accesible y hacer una propuesta de un programa de manejo integrado de la enfermedad. La plantación de San Francisco de los Romo, Aguascalientes, presentó la mayor prevalencia de la enfermedad, con relación a plantas muertas y enfermas. La prevalencia más baja la presentó la huerta de Villa García, Zacatecas. En cuanto a la prevalencia por estados, Aguascalientes presentó los daños más

in the state of Zacatecas. According to the results of the scanning electron microscopy, the detection of phytoplasma-like microorganisms in the samplings of cactus pear Copena, was accomplished. With the object of preserving the economic activity from the cultivating of the opuntia in the region characterized as little favorable for other cultivations, this work provides recent information regarding the disease and provides a basis to develop a complete proposal to handle the disease of the cactus pear.

altos y el estado de Zacatecas la incidencia más baja del engrosamiento del cladodio. De acuerdo con los resultados de microscopía electrónica de barrido, se logró detectar microorganismos tipo fitoplasma, en las muestras de nopal Copena. Con la finalidad de preservar la actividad económica a partir del cultivo del nopal de la región caracterizada por condiciones poco propicias para otros cultivos, este trabajo proporciona información actual respecto a la situación de la enfermedad y proporciona bases para desarrollar una propuesta completa de manejo de la enfermedad en nopal.

References

- Bertaccini, A., Calari, A. and Felker, P. (2007). Developing a method for phytoplasma identification in cactus pear samples from California. *Bulletin of Insectology*, 60(2): 257. <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol60-2007-257-258bertaccini.pdf>
- Borrego, E. F. and Burgos, V. N. (1986). El Nopal. 1ª edición. Editado por la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 202 p.
- Cai, H., Li, F., Kong, B. and Chen, H. (2001). Cloning and sequencing of 16S rRNA gene of Phytoplasma CWB1 strain associated with cactus witches' broom. *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 41(6): 693-698. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12552825>
- Feugang, J. M., Konarski, P., Zou, D., Stintzing, F. C. and Zou, C. (2006). Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontiers on Bioscience*, 11(1): 2574-2589. <https://www.bioscience.org/2006-2#Issue3>
- Fucikovsky, Z. L., Yantilde, M. J., Alanis-Martinez, I. and Gonzalez-Perez, E. (2011). New hosts of 16SrI phytoplasma group associated with edible *Opuntia ficus-indica* crop and its pests in Mexico. *African Journal of Microbiology Research*, 5(8): 910-918. <http://www.academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/70BB09623545>
- Harrison, N., Myrie, W., Jones, P., Carpio, M., Castillo, M., Doyle, M. and Oropeza, C. (2002). 16S rRNA interoperon sequence heterogeneity distinguishes strain populations of palm lethal yellowing phytoplasma in the Caribbean region. *Annals of Applied Biology*, 141(2): 183-193. DOI: [10.1111/j.1744-7348.2002.tb00211.x/pdf](https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00211.x/pdf)
- Hernández-Pérez, R., Noa-Carranza, J., Gaspar, R., Mata, P. and Flores-Estévez, N. (2009). Detection of phytoplasma on indian fig (*Opuntia ficus-indica* Mill) in Mexico central region. *Online Journal of Biological Science*, 9(3): 62-66. <http://thescipub.com/PDF/ojbsci.2009.62.66.pdf>
- Hodgetts, J., Ball, T., Boonham, N., Mumford, R. and Dickinson, M. (2007). Use of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) for identification of phytoplasmas in plants. *Plant Pathology*, 56(3): 357-365. DOI: [10.1111/j.1365-3059.2006.01561.x/pdf](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01561.x/pdf)
- Hogenhout, S. A. and Seruga, M. (2009). Phytoplasma genomics, from sequencing to comparative and functional genomics-what have we learnt? In: *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. Wientraub, P. G. & Jones, P., Eds. 331 pp. £85. ISBN 978-1-84593-530-6. Wallingford, UK: CAB International. DOI: [10.1079/9781845935306.0019](https://doi.org/10.1079/9781845935306.0019)
- Lebsky, V., Poghosyan, A., and Silva-Rosales, L. (2010). Application of scanning electron microscopy for diagnosing phytoplasmas in single and mixed (virus-phytoplasma) infection in Papaya. *Julius-Kühn-Archiv*, (427): 70. <https://ojs.openagrar.de/index.php/JKA/article/viewFile/409/1461>
- Lee, I., Bertaccini, A., Vibio, M. and Gundersen, D. (1995). Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. *Phytopathology*, 85(6), 728-735. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1995Abstracts/Phyto_85_728.htm
- Méndez Gallegos, S. J. and García Herrera, J. (2006). La tuna: Producción y diversidad. CONABIO, *Biodiversitas*, 68: 1-5. www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv68art1.pdf
- Msaddak, L., Siala, R., Fakhfakh, N., Ayadi, M.A., Nasri, M. and Zouari, N. (2015). Cladodes from prickly pear as a functional ingredient: effect on fat retention, oxidative stability, nutritional and sensory properties of cookies. *Int J Food Sci Nutr*, 66(8):

- 851-857. DOI: [10.3109/09637486.2015.1095862](https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1095862). <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/09637486.2015.1095862?journalCode=ijjf20>
- Pimienta-Barrios, E. (1990). El nopal tunero. 1ª edición. Editorial: Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. 246 p.
- Reddy, K., Alam, N., Agrawal and Siddique. (2001). Electron microscopy and molecular characterization of phytoplasmas associated with little leaf disease of brinjal (*Solanum melongena* L.) and periwinkle (*Catharanthus roseus*) in Bangladesh. *Journal of Phytopathology*, 149(5): 237-244. DOI: [10.1046/j.1439-0434.2001.00590.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2001.00590.x)
- Seemüller, E., Marcone, C., Lauer, U., Ragozzino, A. and Göschl, M. (1998). Current status of molecular classification of the phytoplasmas. *Journal of Plant Pathology*, 3-26. DOI: [10.4454/jpp.v80i1.789](https://doi.org/10.4454/jpp.v80i1.789)
- SIAP. (2016). Cierre de la producción agrícola por estado. in: Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México. http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/
- SIAP. (2014). Producción Agrícola, cíclicos perennes de nopalitos. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México. http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/
- Suaste, D. A., Rojas, M. R., Zavaleta, M. E. and Pérez, B. (2012). Detección molecular de fitoplasmas en nopal tunero (*Opuntia ficus-indica*) con síntomas de engrosamiento del cladodio. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 30(1): 81-85. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092012000100007&script=sci_abstract
- Suaste-Dzul, A., Rojas-Martínez, R. I., Ochoa-Martínez, D., Zavaleta-Mejía, E., Pérez-Brito, D., Hernández-Juárez, C. and Rodríguez-Martínez, D. (2012). Virus associated with thickening of the cladodes of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(4): 100-107. <https://www.google.com.mx/url?sa=t&rc=tj&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiz8b7iv5nZAhUUCmMKHSQ0CB0QFggqMAA&url=https%3A%2F%2Fsistemas.uft.edu.br%2Fperiodicos%2Findex.php%2FJBB%2Farticle%2Fdownload%2F380%2F263%2F&usq=AOvVaw0vFKY3Ns8lu96I3hv9DHIW>
- Wei, W., Kawakita, H. and Sato, M. (2000). Detection of a small population of mulberry dwarf (MD)-phytoplasmas in symptomless-mulberry trees by nested PCR. *Journal of Sericultural Science of Japan*, 69(4): 261-269. https://www.jstage.jst.go.jp/article/kontyushigen1930/69/4/69_4_261/_pdf
- Weintraub, P. G. 2007. Insect vectors of phytoplasmas and their control-an update. *Bulletin of Insectology*, 60(2): 169-173. <http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol60-2007-169-173weintraub.pdf>

Cite this paper/Como citar este artículo: Perales-Segovia, C., De La Torre-Pizaña, M. A., Valera-Montero, L. L., Espinoza-Sánchez, E. A., Sanjuan-Lara, F., Silos-Espino, H. (2018). Prevalence of thickening syndrome of cladodes on cactus pear in the north-center region of Mexico and electronic microscopy. *Revista Bio Ciencias* 5, e309. doi: <http://dx.doi.org/10.15741/revbio.05.2018.03>

