

La exocortis de los cítricos y su diagnóstico en el Centro de Saneamiento de Citrus de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres

Ana I. Figueroa Castellanos*, Lucas Foguet**, Cecilia Escobar Ponce de León***, Julia Inés Figueroa* y Beatriz Stein*

Introducción

La exocortis es una enfermedad que se encuentra presente en varios países productores de cítricos. Fue descrita por primera vez en 1948 en California (EE. UU.), en árboles injertados sobre trifoliata (*Poncirus trifoliata*); luego fue citada en Australia y posteriormente en Brasil, en árboles injertados sobre lima Rangpur (*Citrus limonia*).

Los árboles portadores de la enfermedad, cuando están injertados en naranjo agrio, no manifiestan síntomas; por esto y durante muchos años, fue posible el desarrollo de plantaciones sobre este portainjerto. Sin embargo, con la aparición de la tristeza de los cítricos, se comenzó a utilizar portainjertos tolerantes a esta enfermedad, tales como lima Rangpur, trifoliata y sus híbridos, pero que resultaron sensibles a exocortis. La sintomatología característica de esta enfermedad se hizo evidente y puso de manifiesto que el agente causal de la exocortis se hallaba difundido en las variedades comerciales cultivadas en la mayoría de los países citrícolas (Duran-Vila, 2000).

La Estación Experimental Agrícola de Tucumán determinó la exocortis en plantas injertadas en trifoliata y Rangpur en 1960. Además, se realizaron ensayos de transmisión (EEAT, 1959) y se describieron síntomas de esta enfermedad en la colección de cítricos de la institución (Foguet and Oste, 1968).

En la región del Noroeste Argentino (NOA), se pueden observar árboles con descortezamiento en el tronco a nivel del portainjerto y disminución del crecimiento, sintomatología característica de exocortis. En Tucumán, este síntoma se observa principalmente en el portainjerto trifoliata Flying Dragon, cuando es injertado con yemas de limoneros afectados por la enfermedad.

En el año 2004, el Centro de Saneamiento de

Citrus (CSC) de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) implementó el diagnóstico de exocortis por el método biológico y, a partir del año 2006, incorporó como complemento una técnica de diagnóstico molecular: la electroforesis secuencial en geles de poliacrilamida (s-PAGE) (Figueroa *et al.*, 2010).

En este artículo, se presenta una breve descripción de la enfermedad exocortis de los cítricos y los métodos de diagnóstico que se utilizan en el Centro de Saneamiento de Citrus de la EEAOC.

Agente causal y características de la enfermedad

El agente causal de la enfermedad es el viroide *Citrus exocortis viroid* (CEVd), patógeno mucho más pequeño que los virus. Puede infectar a la mayoría de las especies y variedades comerciales de copa, que permanecen asintomáticas mientras no se injerten en portainjertos susceptibles. Cualquier planta con exocortis, aunque no manifieste síntomas, constituye una fuente de inóculo de la enfermedad.

En las especies sensibles, la enfermedad se caracteriza por la aparición de escamas y grietas verticales en la corteza (Figura 1), manchas amarillas en los brotes tiernos y detención del crecimiento (Figura 2).

Los portainjertos sensibles son *Poncirus trifoliata*, algunos de sus híbridos (citranges Troyer y Carrizo) y lima Rangpur. Con respecto a citrumelos, se desconoce su sensibilidad frente a este patógeno.

Daños causados por la enfermedad

Las pérdidas económicas que ocasiona la exocortis son variables y dependen de la estirpe del patógeno, la edad del árbol en el momento de la infección y las condiciones climáticas en que se desarrolla el cultivo. Los árboles con exocortis presentan menor desarrollo, que puede llegar a ser muy marcado y estar asociado a una clorosis progresiva, muerte de

*Ing. Agr., ** Tec. Agrop.,*** Lic. Biotec., Centro de Saneamiento de Citrus, Sección Fruticultura, EEAOC.



Figura 1. Descortezamiento del portainjerto causado por el viroide de la exocortis, en limonero Lisboa Frost injertado sobre trifoliata Flying Dragon. Tucumán, 2008.



Figura 2. Enanismo y decaimiento general (planta de la izquierda), producido por el viroide de la exocortis en pomelo Rouge La Toma, injertado sobre mandarina Cleopatra. Salta, 2006.

ramas pequeñas y decaimiento general de la copa. Existen algunos casos en los que los árboles infectados no presentan grietas y escamas en la corteza del portainjerto, pero manifiestan síntomas de enanismo y decaimiento general de la planta.

Las pérdidas económicas se deben fundamentalmente a las bajas producciones que se obtienen en los árboles enfermos, de menor tamaño. Aunque la calidad de la fruta no se ve afectada, las pérdidas en producción pueden ser de hasta un 60%.

El efecto de esta enfermedad es mayor cuando la infección se produce en vivero, por el injerto de yemas contaminadas, que si ocurre a campo, en árboles implantados (Duran-Vila, 2000).

Dispersión de la enfermedad

La principal vía de dispersión de la exocortis es la propagación por yemas portadoras del CEVd, muchas veces tomadas de árboles que no presentan síntomas. Además se transmite mecánicamente por herramientas, las cuales pueden portar al viroide hasta varias semanas después de haberse contaminado. No se transmite por semillas, ni se conocen vectores para este patógeno.

El CEVd, como todos los viroides, está formado por una molécula de RNA (ácido ribonucleico) circular cerrada covalentemente, estructura que le confiere una característica particular: una gran estabilidad. Se han identificado un gran número de estirpes o variantes de distinta agresividad. Además, es frecuente encontrar al CEVd en infecciones mixtas junto a otros viroides, lo que ocasiona la expresión de formas moderadas o suaves de la enfermedad (Duran-Vila, 2000).

Tipos de diagnóstico

Diagnóstico biológico

Este procedimiento se basa en la inoculación de plantas muy sensibles a la enfermedad a diagnosticar (plantas indicadoras), con tejido de la planta problema.

La planta indicadora utilizada es el cidro Etrog clon Arizona S1, injertado en limonero rugoso, y la inoculación se efectúa injertando tres trozos de corteza de la planta a evaluar en cada cidro. Se realizan cuatro repeticiones y se incluyen además dos testigos negativos (plantas de cidros sin inocular) y dos testigos positivos (cidros inoculados con aislados de exocortis previamente identificados). Luego de tres semanas, se verifica el prendimiento de los injertos para asegurar la transmisión del patógeno a la planta indicadora (Figura 3). A partir de la primera brotación posterior a la inoculación, se realizan observaciones periódicas durante un año. Las plantas de cidro con exocortis manifiestan detención del crecimiento, distintos grados de epinastia (Figuras 4 y 5), arrugamiento de peciolo (Figura 6) y nervadura, peciolo y tallo (Figuras 7 y 8). Es suficiente que una de las cuatro repeticiones manifieste síntomas para que se considere un resultado como positivo (Roistacher, 1991).

El diagnóstico se realiza en invernadero, con condiciones controladas de temperatura (32°C a 40°C durante el día, y 27°C a 30°C durante la noche), para que se manifiesten los síntomas de la enfermedad.

Las plantas de cidro se conducen adecuadamente, a fin de obtener plantas sanas y vigorosas que puedan manifestar claros síntomas de la enfermedad. Cualquier alteración en la nutrición o el ataque de una plaga o enfermedad pueden enmascarar los síntomas de la exocortis de los cítricos y dificultar la evaluación. Además, la manifestación de síntomas en los testigos positivos confirma que las condiciones ambientales del invernadero son las apropiadas.



Figura 3. Trozos de corteza de la planta a analizar (inóculo), injertados en cidro Etrog. Centro de Saneamiento de Citrus (CSC) de la Estación Experimental Agroindustrial (EEAOC), 2009.



Figura 5. Epinastia leve en cidro Etrog, causada por CEVd. CSC, EEAOC, 2009.



Figura 4. Epinastia severa en cidro Etrog causada por CEVd. CSC, EEAOC, 2009.



Figura 6. Arrugamiento de peciolo en cidro, causado por CEVd. CSC, EEAOC, 2009.



Figura 7. Necrosis de peciolo y nervaduras en cidro Etrog, causada por CEVd. CSC, EEAOC, 2009.

Diagnóstico molecular por electroforesis secuencial en geles de poliacrilamida (s-PAGE)

Dado que en la mayoría de las especies y variedades cítricas los viroides no tienen la concentración adecuada para realizar un diagnóstico fiable por s-PAGE, es necesario realizar previamente una bio-multiplicación de estos. Para ello, se inocula una planta de cidro, injertada en limonero rugoso, con tejido de la planta a analizar, y se mantiene por lo menos durante tres meses en un invernadero con las condiciones de temperatura requeridas para el diagnóstico biológico. Cumplido este período de incubación, se realiza la extracción de los ácidos nucleicos del cidro inoculado, que luego se analizan en dos electroforesis sucesivas en geles de poliacrilamida. La primera es una electroforesis estándar (PAGE 5%), y la tinción del gel con bromuro de etidio permite la identificación de la zona que contiene a los viroides (Figura 9). Posteriormente, este segmento se corta y se somete a una segunda

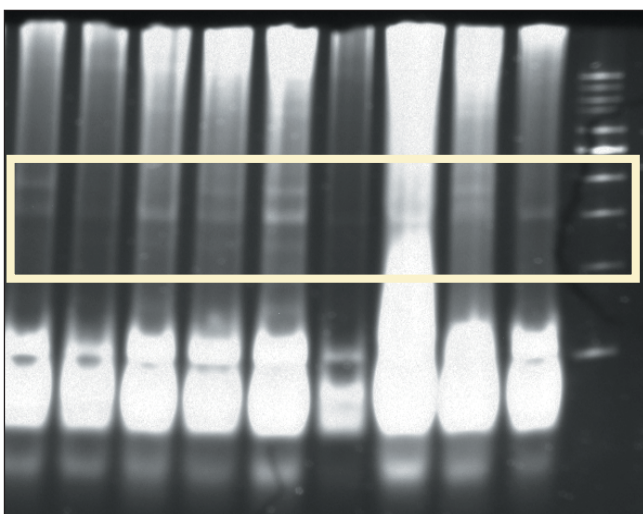


Figura 9. Primer gel de poliacrilamida teñido con bromuro de etidio. El recuadro indica la porción del gel que contiene a los viroides (s-PAGE).



Figura 8. Necrosis de tallo en cidro Etrog, causada por CEVd. CSC, EEAOC, 2009.

electroforesis en un gel desnaturizante (s-PAGE 5% con urea 8M). En este caso, la tinción se realiza con nitrato de plata, que permite visualizar claramente la banda de ácidos nucleicos del CEVd. Si la planta estuviera enferma con una mezcla de viroides, se observarían también otras bandas (Figura 10).

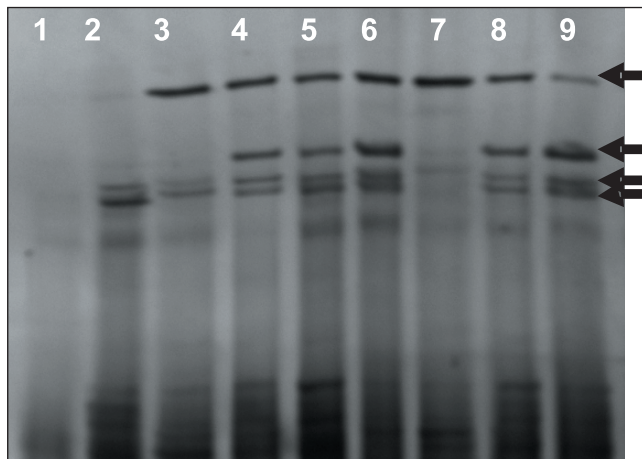


Figura 10. Segundo gel de poliacrilamida teñido con nitrato de plata (s-PAGE). Calle 1: testigo negativo; calle 7: testigo positivo de CEVd; calles 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 9: muestras evaluadas. La flecha superior indica la altura correspondiente a las bandas de CEVd. Las flechas restantes indican la presencia de otros viroides en las muestras analizadas.

Consideraciones finales

La presencia de exocortis en algunas quintas cítricas de la región evidencia la multiplicación de yemas contaminadas.

El control de esta enfermedad es solamente de tipo preventivo, es decir mediante el uso de material de propagación sano.

El Centro de Saneamiento de Citrus realiza diagnóstico por métodos biológicos y moleculares y dispone de material de propagación saneado, libre de exocortis y otras enfermedades transmisibles por injerto.

Bibliografía citada

Duran-Vila, N. 2000. Enfermedades producidas por viroides y agentes similares. En: Duran-Vila, N. y

P. Moreno (eds.), Enfermedades de los cítricos, Ediciones Mundi- Prensa, España, pp. 87-92.

Estación Experimental Agrícola de Tucuman (EEAT). 1959. Memoria anual 1959. Publ. Misc. (9): 38-39.

Figueroa J.; A. I. Figueroa; L. Foguet; C. Escobar and B. Stein. 2010. Confirmation of the presence of citrus viroids in citrus orchards in northwestern Argentina. En: Proc. Conf. IOCV, 17, Riverside, CA., pp. 221-224.

Foguet, J. L. and C. A. Oste. 1968. Disorders of trifoliolate orange rootstock in Tucumán, Argentina. En: Proc. Conf. IOCV, 4, Gainesville, USA, pp. 183-189.

Roistacher, C. N. 1991. Graft-transmissible diseases of citrus. Handbook for detection and diagnosis. FAO, Rome, Italy.

OXICLORURO DE COBRE
ERBOC
COBRE EN FORMA DE PASTA FLUIDA (GEL)

afital

MANEJO SENCILLO
EXCELENTE SUSPENSION
ALTA EFICACIA

Agro **EMCODI** SOCIEDAD ANONIMA
PFG INTERNACIONALS.A. LÉRIDA - ESPAÑA
ARRIAZU AGRO
Tel.: 381. 4228591 - 4227179
San Martín 1448 · San Miguel de Tucumán
www.arriazuagro.com.ar www.afitalnoa.com.ar

B.A.S.A.
Bulacio Argenti S.A.

BULACIO ARGENTI SA

Ruta 302 Km 8, Cevil Pozo
Tels: (0381) 426 8380/83